

杨建树,王雪峰,张秀英,等. IV/SPN 共感染动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(3): 170-178.

Yang JS, Wang XF, Zhang XY, et al. Research progress in animal models of influenza virus/*Streptococcus pneumoniae* co-infection [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(3): 170-178.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.03.015

IV/SPN 共感染动物模型的研究进展

杨建树¹,王雪峰^{2*},张秀英²,穆婧雯¹,徐文涛¹

(1.辽宁中医药大学,沈阳 110847;2.辽宁中医药大学附属医院,沈阳 110032)

【摘要】 流感病毒(influenza virus,IV)患者肺部的细菌重复感染是导致严重疾病和死亡的关键因素,IV 与肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*,SPN)共感染造成的不良后果为患者带来严重负担,其具体发病机制较为复杂,如何更好利用 IV/SPN 共感染小鼠动物模型进行后期基础研究有着重要意义。本文就 IV/SPN 共感染模型中动物的选择、病原类型的选择、造模不同时间的选择、共感染模型的鉴定以及应用进行综述,为今后 IV/SPN 共感染动物模型的选择提供参考。

【关键词】 流感病毒;肺炎链球菌;共感染;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 03-0170-09

Research progress in animal models of influenza virus/ *Streptococcus pneumoniae* co-infection

YANG Jianshu¹, WANG Xuefeng^{2*}, ZHANG Xiuying², MU Jingwen¹, XU Wentao¹

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China. 2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032)

【Abstract】 Bacterial reinfection in the lungs of patients with influenza virus (IV) is a key factor leading to serious illness and death. The adverse consequences caused by co-infection with IV and *Streptococcus pneumoniae* (SPN) impose a serious burden on patients. However, the specific pathogenesis is complex, how to make better use of the mouse animal model of IV/SPN co-infection for subsequent basic research is of great significance. This article reviews the selection of animals, the selection of pathogen types, the selection of different modeling times, the identification of the co-infection model, and its applications in the IV/SPN co-infection model, so as to provide a reference for the selection of animal models of IV/SPN co-infection in the future.

【Keywords】 influenza virus; *Streptococcus pneumoniae*; co-infection; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

在呼吸道病毒病原体中,流感病毒感染造成的发病率与死亡率最高,其中严重不良事件是继

发性细菌性肺炎(secondary bacterial pneumonia, SBP),大多数与肺炎链球菌参与有关。在 1918~

【基金项目】 国家自然科学基金(82374521);国家传承创新中心重点病种项目(2023-247)。

【作者简介】 杨建树(1997—),女,在读博士研究生,研究方向:中医药防治儿童感染性疾病。E-mail:2366136094@qq.com

【通信作者】 王雪峰(1957—),女,博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:中医药防治儿童感染性疾病。

E-mail:lnzywxf@163.com

1919 年的严重流感大流行期间,流感病毒(influenza virus, IV)/肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*, SPN)合并感染造成了数百万人死亡,大多数死亡是由 SBP 并发,SPN 是主要病原体^[1]。2009 年 H1N1 流感大流行期间,25%~50% 的严重或致命病例存在继发性细菌感染^[2],其中鼻咽拭子中检测出的相关性最高的细菌是 SPN^[3]。在 2003 年~2010 年对流感住院儿童的调查发现,最常见的并发症是 SBP,主要的细菌也是 SPN^[4]。大多数与流感病毒流行相关的死亡归因于 SPN 感染,通常在呼吸道 IV 感染的第一周内开始^[5]。尽管药物、疫苗相继问世,但由于病情进展迅速、抗生素耐药性增加以及个体免疫功能抑制等多发因素,导致流感肺炎患者仍然存在预后不良的情况^[6-7],因此对于正确的预防与治疗刻不容缓。无论是疫苗评价还是药物研发,都离不开 IV/SPN 共感染动物模型的使用。本研究在前期研究基础上^[8],进一步分析国内外不同共感染模型的建立方法,明确不同研究背景下动物模型的选择,为 IV/SPN 共感染动物模型的应用提供参考。

1 IV/SPN 共感染动物模型的建立

1.1 动物的选择

1.1.1 鼠

在 IV/SPN 共感染体内实验中主要选择哺乳动物,因为它们在解剖学和生理学上与人类相似。最常见的是啮齿动物,特别是小鼠更频繁地用作共感染模型造模动物。目前国内外文献中最常见的共感染模型小鼠包括 BALB/c 和 C57BL/6(B6)小鼠^[9],年龄在 6~10 周左右,性别雌雄均可。BALB/c 和 B6 小鼠虽然都用于研究 IV 毒株与 SPN 菌株的致病性以及感染后发病机制,但两者在具体应用中有一定差别。BALB/c 和 B6 野生型(wild type, WT)小鼠在高毒力 PR8(A/Puerto Rico/8/34(H1N1))感染后对 SPN 重复感染高度敏感,且 B6 小鼠比 BALB/c 小鼠更容易感染 SPN,发生更严重的肺炎^[10]。与 BALB/c 小鼠相比,B6 小鼠对高致病性甲型禽流感 H5N1 感染的抵抗力更强,而 BALB/c 小鼠对 H7N9 禽流感和大流行性 H1N1 感染的抵抗力更强^[11-12]。另外,两种小鼠在遗传特性中也有不同,已知 B6

小鼠在感染后通过产生干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 具有更强的辅助性 T 细胞 1(T helper cell 1, Th1) 细胞因子反应,而 BALB/c 小鼠具有 2 型细胞因子反应的遗传倾向^[13]。小鼠作为共感染模型的优点是繁殖速度快、体积小、操作简单、能够复制和比较已发表的细菌和病毒单一感染的结果,具备详细的遗传学和免疫反应知识。

1.1.2 雪貂

小鼠作为共感染模型动物,存在的限制是小鼠表现的临床症状不突出,并且小鼠接种呼吸道病毒或细菌后传播潜力较差,因此为了监测广泛的生理研究,可能会选择较大的哺乳动物物种,如雪貂^[14]。与小鼠不同,雪貂在感染流感后表现出与人类相似的临床症状,包括体温升高、嗜睡等^[15],可用于确认使用小鼠模型发现的结果。另外雪貂也可以用于研究宿主体内细菌群在 IV 传播性中的潜在作用^[16],研究有关共感染发病机制中菌株相关差异的问题^[17],是其在共感染动物模型中研究使用的最大优点。由于雪貂天然的种属优势,作为模型动物雪貂已经用于评价抗感染药物的实验研究^[18]。但由于雪貂可用性有限、管理复杂以及雪貂特异性试剂的使用有限,使得这项模型研究普及率较低。

1.1.3 非人灵长类动物

非人灵长类动物对人类致病性病毒具有极度易感性,能够有效模拟人类病毒感染性疾病^[19],也是比较常见的共感染模型动物,最常用的物种是恒河猴(*Macaca mulatta*)和食蟹猴(*Macaca fascicularis*),主要用于研究疫苗的作用功效。研究者使用食蟹猴先注射高致病性禽流感病毒(high pathogenic avian influenza virus, HPAIV)疫苗,分别滴鼻流感病毒,气管注入链球菌,发现 HPAIV 疫苗可减轻 HPAIV 和细菌混合感染引起的高发病率问题^[20]。尽管共感染肺炎的非人灵长类动物研究很少,但由于在生理学和免疫方面与人类非常接近,这些动物可以成为评估治疗和疫苗预防的良好模型。

1.1.4 其他模型载体

除常见的动物外,狗、兔、猪和狒狒也可用于 IV/SPN 共感染模型研究。由于动物模型的局限性,有部分研究选择人离体的气管或者肺组织培养来研究 IV/SPN 感染,主要研究参与共感染的

细胞机制,如流感病毒对呼吸道上皮细胞的损伤与修复及随后的肺炎链球菌黏附过程^[21]。

1.2 病原的选择

1.2.1 IV

IV 是有包膜的 RNA 病毒,根据核蛋白的抗原性进行区分,包括 4 个属(A、B、C 和 D),A 型病毒在人类中最常见,也是毒性最强的。1918 年的 H1N1 病毒最具破坏性,导致全球 5000 万~1 亿人死亡^[22]。但高致病性病毒株(猪或禽源病毒株,如 H5N1 或 H7N9)H3N2 流感病毒比 H1N1 或乙型流感病毒更频繁地增强肺炎球菌定植和传播,诱发并发症^[23]。在动物模型中也发现了影响共发病机制与不同毒力变化。研究表明,与感染 A(H1N1)pdm09 病毒的动物相比,感染 A(H3N2)病毒的血貂在较长时间内更容易受到随后的 SPN 诱发的疾病^[24],不同毒株不仅对继发性疾病的严重性与易感性产生影响,对易感持续时间的影响也存在差异。MIFSUD 等^[24]在使用雪貂模型中发现,对于感染 A(H3N2)病毒的血貂来说,对 SBP 相关疾病的易感性可能会延长至病毒感染后 16 d。可能是 H3N2 中神经氨酸酶 NA 酶活性较高,肺上皮中剥离唾液酸受体增多,暴露更多的肺炎球菌受体结合位点^[25]。

1.2.2 肺炎链球菌

肺炎链球菌是一种革兰氏阳性双球菌,可以表达不同血清型,至少有 100 种荚膜多糖血清型已被发现^[26],肺炎链球菌 6、14、19 及 23 型,常引起儿童肺炎链球菌性疾病,其中血清型 19A 在 5 岁以下儿童肺炎链球菌性疾病中占主导地位^[27]。肺炎球菌在流感合并感染期间引起的严重程度,在人群中传播的可能性是肺炎球菌菌株特异性的,主要取决于荚膜血清型^[17]。其中毒性更强的肺炎球菌菌株与更严重的继发性肺炎相关。先前归类为肺炎链球菌 T4 血清型的菌株作为侵袭性菌株,与 23F 血清型相比也有一定优势,毒力较 23F 更强,其致死率明显高于 23F^[28]。研究发现亚致死 PR8/34(H1N1)IV 单一感染下,分别选择高侵入性血清型 4(T4)、侵入性血清型 7F,以及非侵入性 19F 菌株 3 种菌株进行共感染模型研究,虽然所有测试的肺炎球菌菌株的肺炎程度和死亡率都显著增加,但是全身传播的发生率和动力学仍然依赖于细菌菌株。侵袭性菌株(T4 和

7F)在合并感染后 18 h 出现全身传播,而 19F 菌株在此时间点完全局限于呼吸道,提示共感染后细菌的传播呈现一定的菌株依赖性^[29]。正如 LENHARD 等^[30]研究中使用血清型 2 型、4 型与 19 型菌株提前定植小鼠鼻咽部,通过鼻内和气管内接种 IV,实现向鼻咽和肺部传播,肺炎链球菌 4 型和 2 型在 IV 感染后 48 h 内播散到肺部,但 19 型没有扩散。另外,生物膜生长的肺炎链球菌细胞的毒性相对较低,因此更适合研究作为宿主定植动物模型中的病原菌,先前在 BALB/cByJ 小鼠中建立的小鼠模型利用生物膜生长的肺炎链球菌血清型 2 菌株 D39 和血清型 19F 菌株 EF3030 在鼻咽中建立,SPN 接种后 2 d,IV 被引入鼻腔,导致肺炎球菌从鼻咽(nasopharynx, NP)传播到肺部^[31]。因此在存在和不存在病毒感染的情况下进行动力学模型比较,可以根据实验需求选择肺炎球菌菌株,将了解不同病毒细菌配对中观察到的发病机制和各种结果提供重要的见解。

1.3 造模方法

病毒细菌混合感染是季节性和大流行性流感中严重疾病和死亡的原因,当感染 IV 病毒后,机体免疫应答水平处于比较低下的情况下,很可能伴随潜伏的细菌继发感染。而 IV 病毒感染又会在上呼吸道繁殖的肺炎链球菌传播至下呼吸道,因此会表现为 IV/SPN 共感染。这种混合感染可以是流感病毒最初感染后与肺炎链球菌两种病原体的混合感染,也可以是病毒感染后 5~7 d 继发肺炎球菌感染,混合和连续病毒细菌感染可能存在不同的关键时间窗口。

1.3.1 IV 与 SPN 混合感染

这种动物模型可以研究致病性呼吸道病毒直接与多种不同的细菌病原体相互作用,呼吸道病毒可以直接促进细菌在宿主内细胞的黏附能力,从而介导有效传播。IV/SPN 复合物同时给予小鼠时,鼻道中的细菌负荷显著增加^[32],与流感病毒继发肺炎链球菌感染不同,IV 合并 SPN 感染会造成短时间内更远处细菌传播。另外,当同时存在共感染生物体时,这些相互作用也可能在宿主免疫反应中发挥重要作用,研究发现宿主先天免疫反应性低下早在感染后 3 d 发生^[33]。主要是由于 IV 感染后可能在 2~3 d 达到高峰,并在这一时间段内开始出现体质量的下降^[34],因此,

部分研究人员选择 IV 感染后 3 d 接种 SPN 以期分析体内早期免疫功能发生的作用机制^[35]以及早期肺上皮功能的丧失与修复反应^[36]。在本课题组的前期研究中也选择 IV 感染后 3 d 感染 SPN 动物模型分析肺肠免疫的作用机制^[35-37],可作为 IV/SPN 共感染发病及治疗的研究基础。

1.3.2 IV 感染后继发 SPN 感染

研究表明在鼻内感染后,感染 IV 的小鼠在感染后 3~4 d 开始体重减轻,感染后第 7 天开始最大体质量减轻为初始体质量的 20%,并且在这一时间点内肺损伤也最严重^[27]。这也与 MCCULLERS 等^[38]研究一致,继发肺炎球菌感染发生在 7 d 时连续感染的死亡率最高。不仅如此,在 IV 感染后继发 SPN 感染小鼠模型中发现在这一时间点诱导严重继发性细菌性肺炎所需的细菌接种量低于在原发感染中引起临床症状所需的细菌接种量。特别是最近的一项研究表明,在没有流感的情况下,在小鼠中建立肺炎球菌感染需要接种 10^5 个菌落形成单位 (colony forming units, CFU)^[39],而接种流感后 7 d, 100 CFU 就足以引起严重的肺炎球菌感染肺炎^[38]。最近也有研究发现,先前感染流感 6 d (而非 3 d) 会显著增加继发性肺炎球菌肺炎的严重程度^[21]。在感染流感病毒 6 d 的小鼠气管中,与未感染的小鼠气管中的肺炎球菌相比,残留的肺炎球菌数量增加了 220 倍,与感染流感 3 d 的小鼠气管中的肺炎球菌相比,残留的肺炎球菌是感染前 3 d 的小鼠 2.1 倍。SENDER 等^[40]的研究更表明,在这种模型中肺炎链球菌数量的增加可以在短时间内发生,可以缩短至 35 min。

IV 感染在第 14 天时绝大多数病毒已被清除,但感染 IV 后 2 周和 4 周的小鼠控制细菌复制的能力较低,肺部细菌数量依然有所增加^[41]。部分研究人员在 IV 感染后 14、21 d 后接种 SPN,发现在 IV 感染后 14、21 d,小鼠也受到这种肺炎链球菌接种的严重影响,体质量逐渐减轻,活动减少^[42]。此种造模方法再现了继发性细菌性肺炎的易感性,对细菌感染的易感性最大增加通常发生在病毒感染后几天,但可能延续到第 14、21 天,可能与肺上皮损伤以及巨噬细胞与中性粒细胞不同程度的消耗有关,非常适合进行机体病毒感染后继发 SPN 造成的协同死亡率的机制研究。

1.3.3 提前定植 SPN

关于 IV/SPN 共感染的动物模型研究,多采用 IV-SPN 的感染顺序,但针对儿童的情况来看,肺炎球菌从儿童早期(携带者状态)开始无症状地连续和顺序地定植于人鼻咽的黏膜表面,上呼吸道感染病毒感染,特别是与流感有关的疾病,增加了携带率,是所有肺炎球菌疾病的主要风险因素^[4],肺炎球菌在儿童中的携带率可能超过 80%^[43],对此提出疑问,临床中流感病毒感染继发性肺炎是由于流感病毒感染后再次对外界菌株易感性的增加而诱发,还是本身定植于体内的良性定植菌受到病毒因素刺激转变为传播到其他器官的致病菌引发的严重感染?

为了准确地反映儿童体内发生的宿主-病原体相互作用,优势的菌株是否会因病毒感染而改变,因此有部分学者在鼻腔内提前滴入 SPN,并且用 IV 进一步诱发,明确其致病性。研究表明,提前 3 d 接种 SPN 后再次滴入 IV,IV 的存在不仅增加了肺炎球菌的定植,而且还促进了 SPN 从鼻咽部到下呼吸道中的复制。在使用生物发光成像技术对小鼠体内 SPN 追踪时发现,当小鼠感染 IV 时,定植于鼻咽部位的 SPN 向肺部传播,在没有 IV 的情况下没有观察到传播,因此无致病力的肺炎链球菌受到流感病毒的刺激后会向体内气管甚至全身传播^[44]。也有一部分研究者采用乳鼠模型进行研究,在小鼠出生 5 d 后接种 SPN,第 8 天接种 IV,发现由于 IV 引起的体内炎症增加,这些小鼠更容易脱落并向全身传播 SPN,并且使得菌血症等严重并发症的发生^[45]。在病毒共同感染的驱动下,上呼吸道定植生态位的扰动有助于 SPN 的脱落,并从无症状携带到致病性转变。证明病毒感染引发的宿主变化对肺炎球菌的行为有直接影响,进而改变体内共感染的。

因此,这一模型重现了肺炎球菌从无症状携带到病毒感染后患病的转变,模仿流感合并感染情况下肺炎链球菌的自然发病机制。上呼吸道的病毒感染导致宿主环境发生变化,导致肺炎球菌从生物膜中扩散并扩散到下呼吸道。对于研究幼龄儿童继发性肺炎疾病模型来说,选择此种模型研究分析肺炎链球菌-流感病毒共感染的具体作用机制也有较大意义。同时,IV 感染对于 SPN 从定植向致病性的转变至关重要,因为可以

通过抑制病毒复制来阻止传播。病毒感染促使肺炎球菌从无症状定植者转变为侵入性病原体的机制以及宿主因素如何影响这一机制仍不清楚,今后可以选择此种动物模型作为研究对象。

2 IV/SPN 共感染小鼠动物模型鉴定方法

2.1 一般状态观察

本课题组在之前的研究中发现 IV/SPN 共感染的小鼠出现明显活动明显减少、精神萎靡,皮色灰暗,发热、气促、饮食不佳,出现弓背竖毛表现^[46],可以初步从小鼠一般状态判断模型是否成功建立。

2.2 病理组织切片染色

在仅感染 IV 的肺组织中,主要是细支气管周围和肺泡间隙中炎性细胞浸润以及微血管出血。单独感染肺炎链球菌的小鼠也表现出明显的血管周围和细支气管周围淋巴细胞浸润。IV/SPN 共感染的小鼠在间质和肺泡空间中表现出密集的炎性细胞浸润,并伴有显著的出血、血管渗漏和水肿形成,表明血管损伤和上皮内皮通透性增加^[47]。

2.3 病毒载量测定

对于共感染后动物模型中病毒载量主要是进行空斑形成单位(plaque-forming units, PFU)测定以确定受感染小鼠肺部的流感病毒感染接种物和滴度,在 MDCK 细胞上连续 10 倍稀释的肺匀浆进行滴定^[48]。如前所述,还可以通过定量实时 PCR 分析流感病毒关键基因如 M1 基因^[49]以及核蛋白(nuclear protein, NP)基因表达水平确定肺组织中的病毒 RNA 拷贝数^[50]。

2.4 细菌载量测定

可以选择肺组织匀浆、鼻部灌洗液以及支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)进行测定。连续稀释在血琼脂平板上过夜培养,对 BALF、鼻洗液和肺组织中的肺炎链球菌进行定量,37℃,浓度为 5% CO₂ 培养后,利用 CFU 分析对细菌载量进行量化^[51]。也可以选择实时 PCR 等方法构建肺炎链球菌中溶血素(pneumolysin, PLY)的表达,进行相对定量分析^[52]。

3 IV/SPN 共感染动物模型的应用现状

对 1918 年流感流行期间因继发细菌感染而死亡的病例进行分析之后发现,不到 5% 的死亡发生在流感症状出现后 3 d 内,大多数死亡时间在流感病毒感染后 7~14 d 内,约 30% 的死亡发生在初始症状后 14 d 以上^[53-54]。VAN ASTEN 等^[55]对收进 ICU 的重症肺炎患者调查中发现,只有 5% 患者疾病严重程度与单独病毒感染有关,其余的重症肺炎患者均伴有细菌合并感染,病毒细菌混合感染主要在最初流感症状出现一周内发生。在对现有 IV/SPN 共感染的动物模型分析中发现,干预调控 IV/SPN 共感染的研究中主要采用时间间隔为 7 d 的感染模型。这也说明流感病毒感染后一周左右是继发细菌感染的关键节点,如何更好地把控这一时间节点尽早给予药物或疫苗,对把控疾病的发生发展有重要意义。

3.1 疾病机制研究

IV/SPN 共感染动物模型的构建为明确该疾病的发病机制提供坚实基础,使用 IV 感染后 7 d 感染 SPN 小鼠模型后发现^[56],流感感染增加唾液酸和唾液酸化黏蛋白的可用性,增强小鼠鼻咽部的肺炎球菌定植,从而促进细菌扩散到肺部,初步明确 IV/SPN 共感染发病机制。体内先天性和适应性免疫反应受损也与 IV/SPN 共感染有关。巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞构成了先天免疫的防线,已有学者使用共感染动物模型研究后发现,IV 感染导致肺常驻巨噬细胞消耗^[57],树突状细胞减少^[58],中性粒细胞反应降低^[59],从而加速细菌的定植,引起严重的炎症反应。WU 等^[60]研究发现 IV 感染后 B 细胞、CD4⁺ T 细胞和浆细胞的数量减少,适应性免疫中 B 细胞免疫反应的降低更导致继发性 SPN 感染,证明了这一过程中的体液免疫反应的参与。LI 等^[61]也证明了这一点,增强辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)反应,可以挽救 IV 感染后的免疫反应,并改善不同 SPN 血清型的致死性合并感染。利用 IV/SPN 共感染动物模型,深入了解共感染的病理生理过程,为开发治疗方法提供理论依据。

3.2 诊断方法开发

国内大多数医院对于流感病毒合并细菌性肺炎的诊断主要是采取病原学检查,与动物模型中病毒滴度、细菌载量的测定一致,但是在临床上这一方法检测时间较长,可能会延误患者病情。血象检查也比较常见,如检测肝素结合蛋白、降钙素原、血清淀粉样蛋白 A 等指标^[62],但是这些指标敏感度以及对不同菌株的特异度均有待提高。因此如何利用动物模型,研究准确快捷的诊断非常必要,已有文献中对不同菌株进行标记,使用活体动物体内可见光成像技术分析体内的菌量强弱^[63],而这一标记定位技术将来在动物模型中不断完善后是否可以更好地应用于临床早期诊断,针对不同菌株进行标记,提供更准确、快速的检测手段,从根本上完善患者感染性疾病的治疗,降低病死率。

3.3 治疗策略评估

IV/SPN 共感染动物模型不仅用于保护性疫苗的研发^[64-65],也为药物干预提供思路。观察抗病毒药物小鼠流感后肺炎球菌肺炎转归的影响后发现与口服奥司他韦的小鼠相比,静脉注射帕拉米韦治疗可显著降低小鼠肺部的活菌数和病毒滴度,减少炎性细胞的产生^[66],利用动物模型评估药物疗效,可以在临床上选择更为直接有效的抗病毒药物。BRESLOW-DECKMAN 等^[67]利用 IV 感染后 7 d 感染 SPN 的动物模型,在 IV 感染 24 h 后,给予利奈唑胺抗菌治疗,发现该药物预处理小鼠可以逆转小鼠感染流感后的免疫低反应,细菌负荷降低,体质量下降情况减少,因此也为临床上抗菌药物的应用提供选择时间。免疫调节剂的干预治疗也可以很大程度上控制病情,TAVARE 等^[42]在 IV 感染后第 0 天给予作用于巨噬细胞的一种半胱氨酸酶预防干预,在 IV 感染后第 7 天接种 SPN,发现这种酶类可以作用于巨噬细胞增强对细菌吞噬能力,减少体内易感基因,为临床上药物的研发提供思路。另外中医药在 IV/SPN 共感染的动物模型中也有研究^[68],同样选择间隔时间在 7 d 左右的感染顺序构建动物模型,期间给予中药治疗,从而改善 IV/SPN 共感染后不良结局,更好说明中医药预防给药对呼吸道感染性疾病的有效性。

4 讨论

伴有 SBP 的季节性流感是常年杀手,下一次大流行总是迫在眉睫。鉴于病原体对药物的耐药性迅速增加,不针对病原体的新疗法周期,调节宿主免疫是迫切需要的。尽管流感和肺炎球菌之间的协同作用涉及许多因素,但了解流感和细菌病原体之间相互作用的机制对于找到对抗流感感染和继发性细菌感染的治疗以及疫苗的研发至关重要。模型动物的选择、病原体类型和菌株、感染顺序和时间都会影响流感后细菌性肺炎的进展。总结文献后我们强调在共感染模型中,IV 与 SPN 感染之间的时间间隔在两者共感染中的协同作用和由此导致的超额死亡率中起着关键作用,根据课题的研究需求选择合适的共感染动物模型是有必要的。本文中对不同毒株、菌株类型以及造模顺序进行初探,以期更多研究人员选择动物模型提供思路。但动物模型与人类疾病存在一定的差异,不能完全反映人类共感染的情况。不同动物模型之间可能存在差异,需要进行不断地比较和验证。

虽然构建共感染动物模型已逐步成熟,但是仍然需要进行更贴近临床的模型研究,进一步优化动物模型,提高其与人类疾病的相似性。不断明确新的感染途径和动物物种,扩大研究范围。利用更为有效准确的技术分析体内动态病情变化,提高研究结果可靠性。并且也要实时结合临床样本和数据分析,深入研究共感染的机制和治疗策略,提升临床应用价值。

参考文献:

- [1] MORENS D M, TAUBENBERGER J K, FAUCI A S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness [J]. J Infect Dis, 2008, 198(7): 962-970.
- [2] MCCULLERS J A. Preventing and treating secondary bacterial infections with antiviral agents [J]. Antivir Ther, 2011, 16(2): 123-135.
- [3] PALACIOS G, HORNIG M, CISTERNA D, et al. *Streptococcus pneumoniae* coinfection is correlated with the severity of H1N1 pandemic influenza [J]. PLoS One, 2009, 4(12): e8540.
- [4] DAWOOD F S, CHAVES S S, PÉREZ A, et al. Complications and associated bacterial coinfections among

- children hospitalized with seasonal or pandemic influenza, United States, 2003-2010 [J]. *J Infect Dis*, 2014, 209 (5): 686-694.
- [5] COHN O, YANKOVITZ G, MANDELBOIM M, et al. The host transcriptional response to superinfection by influenza A virus and *Streptococcus pneumoniae* [J]. *mSystems*, 2024, 9 (4): e0104823.
- [6] ARRANZ-HERRERO J, PRESA J, RIUS-ROCABERT S, et al. Determinants of poor clinical outcome in patients with influenza pneumonia: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Infect Dis*, 2023, 131: 173-179.
- [7] HERNANDEZ-MORFA M, REINOSO-VIZCAION N M, ZAPPIA V E, et al. Intracellular *Streptococcus pneumoniae* develops enhanced fluoroquinolone persistence during influenza A coinfection [J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1423995.
- [8] 赫昊, 王雪峰, 张秀英, 等. 流感病毒与肺炎链球菌共感染动物模型的国内外研究进展 [J]. *中国中西医结合儿科学*, 2021, 13(3): 201-204.
- HE H, WANG X F, ZHANG X Y, et al. Research progress in animal models of co-infection by influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* at home and abroad [J]. *Chin Pediatr Integr Tradit West Med*, 2021, 13(3): 201-204.
- [9] MELO E M, DEL SARTO J, VAGO J P, et al. Relevance of angiotensin-(1-7) and its receptor Mas in pneumonia caused by influenza virus and post-influenza pneumococcal infection [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105292.
- [10] PALANI S, UDDIN M B, MCKELVEY M, et al. Immune predisposition drives susceptibility to pneumococcal pneumonia after mild influenza A virus infection in mice [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1272920.
- [11] ZHAO G, LIU C, KOU Z, et al. Differences in the pathogenicity and inflammatory responses induced by avian influenza A/H7N9 virus infection in BALB/c and C57BL/6 mouse models [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92987.
- [12] OTTE A, SAUTER M, ALLEVA L, et al. Differential host determinants contribute to the pathogenesis of 2009 pandemic H1N1 and human H5N1 influenza A viruses in experimental mouse models [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(1): 230-239.
- [13] SELLERS R S, CLIFFORD C B, TREUTING P M, et al. Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice [J]. *Vet Pathol*, 2012, 49(1): 32-43.
- [14] MIZGERD J P, SKERRETT S J. Animal models of human pneumonia [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(3): L387-L398.
- [15] OH D Y, HURT A C. Using the ferret as an animal model for investigating influenza antiviral effectiveness [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 80.
- [16] ROWE H M, LIVINGSTON B, MARGOLIS E, et al. Respiratory bacteria stabilize and promote airborne transmission of influenza A virus [J]. *mSystems*, 2020, 5 (5): e00762-20.
- [17] MCCULLERS J A, MCAULEY J L, BROWALL S, et al. Influenza enhances susceptibility to natural acquisition of and disease due to *Streptococcus pneumoniae* in ferrets [J]. *J Infect Dis*, 2010, 202(8): 1287-1295.
- [18] 刘学武, 唐梓宁, 彭冬冬, 等. 雪貂在抗感染药物非临床研究中的应用 [J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(6): 799-818.
- LIU X W, TANG Z N, PENG D D, et al. Use of ferrets in nonclinical studies of anti-infective drugs [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2024, 32(6): 799-818.
- [19] 黄涛, 张海涛, 李志雄, 等. 非人灵长类动物在病毒感染模型中的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29 (2): 248-255.
- HUANG T, ZHANG H T, LI Z X, et al. Research progress in non-human primate virus infection models [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(2): 248-255.
- [20] MIYAKE T, SODA K, ITOH Y, et al. Amelioration of pneumonia with *Streptococcus pneumoniae* infection by inoculation with a vaccine against highly pathogenic avian influenza virus in a non-human primate mixed infection model [J]. *J Med Primatol*, 2010, 39(1): 58-70.
- [21] PITTET L A, HALL-STOODLEY L, RUTKOWSKI M R, et al. Influenza virus infection decreases tracheal mucociliary velocity and clearance of *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(4): 450-460.
- [22] TAUBENBERGER J K, MORENS D M. The 1918 influenza pandemic and its legacy [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(10): a038695.
- [23] BURRELL A, HUCKSON S, PILCHER D. ICU admissions for sepsis or pneumonia in Australia and New Zealand in 2017 [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(22): 2138-2139.
- [24] MIFSUD E J, FARRUKKEE R, HURT A C, et al. Infection with different human influenza A subtypes affects the period of susceptibility to secondary bacterial infections in ferrets [J]. *FEMS Microbes*, 2022, 3: xtac011.
- [25] PELTOLA V T, GOPAL MURTI K, MCCULLERS J A. Influenza virus neuraminidase contributes to secondary bacterial pneumonia [J]. *J Infect Dis*, 2005, 192(2): 249-257.
- [26] GANAIE F, SAAD J S, MCGEE L, et al. A new pneumococcal capsule type, 10D, is the 100th serotype and has a large cps fragment from an oral *Streptococcus* [J]. *mBio*, 2020, 11(3): e00937-20.
- [27] FLEMING-DUTRA K E, TAYLOR T, LINK-GELLES R, et al. Effect of the 2009 influenza a (H1N1) pandemic on

- invasive pneumococcal pneumonia [J]. J Infect Dis, 2013, 207(7): 1135-1143.
- [28] 姜彬. 记忆性 CD4 T 细胞对 IAV/Sp 共感染的免疫保护机制 [D]. 上海: 上海交通大学, 2015.
- JIANG B. Immunoprotective mechanism of memory CD4 T cells against IAV/Sp co-infection [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2015.
- [29] SHARMA-CHAWLA N, SENDER V, KERSHAW O, et al. Influenza A virus infection predisposes hosts to secondary infection with different *Streptococcus pneumoniae* serotypes with similar outcome but serotype-specific manifestation [J]. Infect Immun, 2016, 84(12): 3445-3457.
- [30] LENHARD A, JOMA B H, SIWAPORNCHAI N, et al. A mouse model for the transition of *Streptococcus pneumoniae* from colonizer to pathogen upon viral co-infection recapitulates age-exacerbated illness [J]. J Vis Exp, 2022 (187): e64419.
- [31] MARKS L R, DAVIDSON B A, KNIGHT P R, et al. InterKingdom signaling induces *Streptococcus pneumoniae* biofilm dispersion and transition from asymptomatic colonization to disease [J]. mBio, 2013, 4(4): e00438-13.
- [32] ROWE H M, MELIOPOULOS V A, IVERSON A, et al. Direct interactions with influenza promote bacterial adherence during respiratory infections [J]. Nat Microbiol, 2019, 4(8): 1328-1336.
- [33] CHEN W H, TOAPANTA F R, SHIREY K A, et al. Potential role for alternatively activated macrophages in the secondary bacterial infection during recovery from influenza [J]. Immunol Lett, 2012, 141(2): 227-234.
- [34] WANG Q, REN X, WU J, et al. Protocatechuic acid protects mice from influenza A virus infection [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2022, 41(4): 589-596.
- [35] 徐文涛, 王雪峰, 杨建树, 等. 宣白承气汤对流感病毒和肺炎链球菌共感染致肺肠免疫损伤的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(11): 1350-1358.
- XU W T, WANG X F, YANG J S, et al. Effect of xuanbai Chengqi decoction on pulmonary and intestinal immune injury induced by coinfection of influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2023, 43(11): 1350-1358.
- [36] KASH J C, WALTERS K A, SALLY DAVIS A, et al. Lethal synergism of 2009 pandemic H1N1 influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* coinfection is associated with loss of murine lung repair responses [J]. mBio, 2011, 2(5): e00172-11.
- [37] 史俊祖, 常一川, 王雪峰, 等. 宣白承气汤加味联合西药改善流感病毒与肺炎链球菌共感染小鼠肺炎作用机制 [J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(5): 592-602.
- SHI J Z, CHANG Y C, WANG X F, et al. Mechanism of modified Xuanbai Chengqi decoction combined with western medicine in improving pneumonia in influenza virus/*Streptococcus pneumoniae* co-infected mice [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2024, 44(5): 592-602.
- [38] MCCULLERS J A, REHG J E. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor [J]. J Infect Dis, 2002, 186(3): 341-350.
- [39] SMITH A M, MCCULLERS J A, ADLER F R. Mathematical model of a three-stage innate immune response to a pneumococcal lung infection [J]. J Theor Biol, 2011, 276(1): 106-116.
- [40] SENDER V, HENTRICH K, PATHAK A, et al. Capillary leakage provides nutrients and antioxidants for rapid pneumococcal proliferation in influenza-infected lower airways [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(49): 31386-31397.
- [41] IVANOV S, RENNESON J, FONTAINE J, et al. Interleukin-22 reduces lung inflammation during influenza A virus infection and protects against secondary bacterial infection [J]. J Virol, 2013, 87(12): 6911-6924.
- [42] TAVARES L P, BRÜGGEMANN T R, REZENDE R M, et al. Cysteinyl maresins reprogram macrophages to protect mice from *Streptococcus pneumoniae* after influenza A virus infection [J]. mBio, 2022, 13(4): e0126722.
- [43] ADEGBOLA R A, OBARO S K, BINEY E, et al. Evaluation of Binax now *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in children in a community with a high carriage rate of pneumococcus [J]. Pediatr Infect Dis J, 2001, 20(7): 718-719.
- [44] DIAVATOPOULOS D A, SHORT K R, PRICE J T, et al. Influenza A virus facilitates *Streptococcus pneumoniae* transmission and disease [J]. FASEB J, 2010, 24(6): 1789-1798.
- [45] SAKATANI H, KONO M, NANUSHAJ D, et al. A novel pneumococcal surface protein K of nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae* promotes transmission among littermates in an infant mouse model with influenza A virus coinfection [J]. Infect Immun, 2022, 90(2): e0062221.
- [46] 杨建树, 王雪峰, 张秀英, 等. 宣白承气汤调控巨噬细胞极化在 IV/SPN 共感染所致肺肠损伤中的机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(10): 2309-2314.
- YANG J S, WANG X F, ZHANG X Y, et al. Study on the mechanism of Xuanbai Chengqi Decoction regulating macrophage polarization in lung and intestine injury induced by IV/SPN co infection [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(10): 2309-2314.
- [47] SUMITOMO T, NAKATA M, NAGASE S, et al. GP96 drives exacerbation of secondary bacterial pneumonia

- following influenza A virus infection [J]. *mBio*, 2021, 12(3): e0326920.
- [48] ELLIS G T, DAVIDSON S, CROTTA S, et al. TRAIL⁺ monocytes and monocyte-related cells cause lung damage and thereby increase susceptibility to influenza-*Streptococcus pneumoniae* coinfection [J]. *EMBO Rep*, 2015, 16(9): 1203–1218.
- [49] HU L, SUN L, YANG C, et al. Gut microbiota-derived acetate attenuates lung injury induced by influenza infection via protecting airway tight junctions [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 570.
- [50] VAN ELDEN L J, NIJHUIS M, SCHIPPER P, et al. Simultaneous detection of influenza viruses A and B using real-time quantitative PCR [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(1): 196–200.
- [51] VERSTRAETEN S, SENCIO V, RAISE A, et al. Description of a newly isolated blautia faecis strain and its benefit in mouse models of post-influenza secondary enteric and pulmonary infections [J]. *Nutrients*, 2022, 14(7): 1478.
- [52] WALTERS K A, D'AGNILLO F, SHENG Z M, et al. 1918 pandemic influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* co-infection results in activation of coagulation and widespread pulmonary thrombosis in mice and humans [J]. *J Pathol*, 2016, 238(1): 85–97.
- [53] MILLS C E, ROBINS J M, LIPSITCH M. Transmissibility of 1918 pandemic influenza [J]. *Nature*, 2004, 432(7019): 904–906.
- [54] BRUNDAGE J F, DENNIS SHANKS G. Deaths from bacterial pneumonia during 1918 ~ 19 influenza pandemic [J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(8): 1193–1199.
- [55] VAN ASTEN L, LUNA PINZON A, DE LANGE D W, et al. Estimating severity of influenza epidemics from severe acute respiratory infections (SARI) in intensive care units [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 351.
- [56] SIEGEL S J, ROCHE A M, WEISER J N. Influenza promotes pneumococcal growth during coinfection by providing host sialylated substrates as a nutrient source [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 16(1): 55–67.
- [57] GDAVID C, VERNEY C, SI-TAHAR M, et al. The deadly dance of alveolar macrophages and influenza virus [J]. *Eur Respir Rev*, 2024, 3(174): 240132.
- [58] WEI L, WANG X, ZHOU H. Interaction among inflammasome, PANoptosis, and innate immune cells in infection of influenza virus: Updated review [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(9): e997.
- [59] KONO M, NANUSHAJ D, SAKATANI H, et al. The roles of transient receptor potential vanilloid 1 and 4 in pneumococcal nasal colonization and subsequent development of invasive disease [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 732029.
- [60] WU Y, TU W, LAM K T, et al. Lethal coinfection of influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* lowers antibody response to influenza virus in lung and reduces numbers of germinal center B cells, T follicular helper cells, and plasma cells in mediastinal lymph Node [J]. *J Virol*, 2015, 89(4): 2013–2023.
- [61] LI Y, YANG Y, CHEN D, et al. Memory Th17 cell-mediated protection against lethal secondary pneumococcal pneumonia following influenza infection [J]. *mBio*, 2023, 14(4): e0051923.
- [62] 才莹, 谢凤杰, 孙宇, 等. PCT、HBP、SAA 对重症病毒性肺炎继发细菌感染患者的诊断价值 [J]. *中国医药科学*, 2023, 13(23): 177–180.
- CAI Y, XIE F J, SUN Y, et al. Diagnostic value of PCT, HBP, and SAA in patients with bacterial infection secondary to severe viral pneumonia [J]. *China Med Pharm*, 2023, 13(23): 177–180.
- [63] SHORT K R, DIAVATOPOULOS D A, READING P C, et al. Using bioluminescent imaging to investigate synergism between *Streptococcus pneumoniae* and influenza A virus in infant mice [J]. *J Vis Exp*, 2011, 50: 2357.
- [64] GINGERICH A D, ROYER F, MCCORMICK A L, et al. Synergistic protection against secondary pneumococcal infection by human monoclonal antibodies targeting distinct epitopes [J]. *J Immunol*, 2023, 210(1): 50–60.
- [65] KUMAR S, HAZLETT K, BAI G. Mucosal immunity elicited by a human-Fcγ receptor-1 targeted intranasal vaccine platform enhances resistance against nasopharyngeal colonization of *Streptococcus pneumoniae* and induces broadly protective immunity against respiratory pathogens [J]. *Vaccine*, 2025, 43: 126729.
- [66] ONISHI M, KITANO M, TANIGUCHI K, et al. Intravenous peramivir inhibits viral replication, and leads to bacterial clearance and prevention of mortality during murine bacterial co-infection caused by influenza A(H1N1)pdm09 virus and *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Antiviral Res*, 2015, 117: 52–59.
- [67] BRESLOW-DECKMAN J M, MATTINGLY C M, BIRKET S E, et al. Linezolid decreases susceptibility to secondary bacterial pneumonia postinfluenza infection in mice through its effects on IFN-γ [J]. *J Immunol*, 2013, 191(4): 1792–1799.
- [68] LIU J, CHEN Y Z, OU K X, et al. Anti-bacterial and anti-viral effects of Fengqing oral liquid *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 41(4): 530–538.

[收稿日期]2024-08-16