

• 论 著 •

淋巴细胞亚群检测在感染性疾病中的应用

陈少艳,刘基铎,肖明锋,袁 晴,刘光平
(广州中医药大学第一附属医院 510405)

摘要:**目的** 通过检测不同感染性疾病患者外周血各淋巴细胞亚群来评估免疫功能,了解不同感染对宿主免疫功能的影响并分析其临床意义。**方法** 利用流式细胞术分别检测细菌感染组(下称细菌组)31例,真菌感染组(下称真菌组)13例,病毒感染组(下称病毒组)62例以及对照组(下称对照组)15例的淋巴细胞亚群,并对其进行分析。**结果** 与对照组比较,病毒组 CD3⁺ T 细胞比率升高,真菌组和病毒组 CD4⁺ T 细胞比率均降低,且真菌组低于病毒组,而 2 组 CD8⁺ T 细胞比率则升高,且真菌组高于病毒组,2 组 CD4⁺/CD8⁺ 比值均降低。3 组中,NK 细胞(CD16⁺CD56⁺)比率较对照组均有不同程度降低,其中细菌组明显低于其他 2 组。细菌组中,B 细胞比率升高,革兰阳性球菌(G⁺菌)组和革兰阴性杆菌(G⁻菌)组 NK 细胞均较对照组降低,但 2 组间 NK 细胞差异无统计学意义。而 2 组中,B 细胞比率则升高,其中 G⁺菌较 G⁻菌升高明显。在病毒组中,HBV 组与登革热组 CD3⁺ T 细胞比率均较健康对照升高,且登革热组升高较乙型肝炎病毒组明显。其中登革热组 CD4⁺降低,CD8⁺升高,CD4⁺/CD8⁺降低。2 组中 NK 细胞比率均降低,HBV 组较登革热组降低明显。**结论** 检测淋巴细胞亚群可客观反映并有助于了解感染性疾病患者免疫功能状态,为患者诊断及预防提供实验室依据,以期降低感染及其并发症。

关键词:淋巴细胞亚群; 感染性疾病; 应用
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.022 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)02-0206-03

Detection of lymphocyte subsets in the application of the infectious diseases
CHEN Shaoyan,LIU Jiduo,XIAO Mingfeng,YUAN Qing,LIU Guangping

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine,Guangzhou,Guangdong 510405,China)

Abstract:**Objective** Investigate the different changes of host cellular immunity in patients with different infection by comparing peripheral blood lymphocyte subsets. **Methods** Flow cytometry was used to detect the peripheral blood lymphocyte subset among 96 patients including 31 bacterial infection cases,13 fungal infection cases and 62 virus infection cases. **Results** Compared with control group the ratio of CD3⁺ T cell was increased in virus group,and the ratio of CD4⁺ T was decreased in fungi and virus group and the fungus is lower than the virus group,while the ratio of CD8⁺ T cell was increased in the two groups,and fungi group is higher than the virus,CD4⁺/CD8⁺ ratio in the two groups were reduced. Three groups of NK cells (of CD16⁺CD56⁺) ratio was reduced to some extent,and bacteria group was lower than that of other two groups. The ratio of B cell was increased in Bacteria group and it was more obvious in the G⁺ bacteria. NK cells in G⁺ bacteria and G⁻ bacteria group were relatively lower than control group,but the difference between the two groups was not significance. In virus infection cases,the ratio of CD3⁺ T in HBV group was higher than that of dengue fever group. And the ratio of CD3⁺ and NK cells were increased in the two groups. The ratio of CD4⁺ was decreased in dengue fever group. **Conclusion** Detection of lymphocyte subset can objectively reflect and help to understand the state of the immune function of patients with infectious diseases,providing laboratory basis for the diagnosis and prevention in order to reduce the infectious risk and side effect.

Key words:lymphocyte subsets; infectious diseases; application

感染性疾病是临床的常见病、多发病,主要由细菌、真菌和病毒等入侵体内引起炎症反应,多数伴有发热症状。细菌和病毒等病原体及其产物所引起的感染性疾病,迄今仍然是人类病死和致残的主要原因之一,威胁着人类的身体健康。随着科学技术的不断进步,感染性疾病的诊断向着早期、快速、自动化、多重检测等方面发展^[1]。感染性疾病发生、发展与免疫因素有关,其中淋巴细胞亚群是反映机体免疫功能的指标之一,是机体免疫防御体系中重要组成部分,其变化与感染性疾病类型和程度等具有一定的关系^[2]。因此,淋巴细胞亚群的检测对控制感染性疾病的发生、发展,以及了解疾病的机制、指导临床治疗都有极其重要的意义。为此,作者对本院诊治的 106 例感染性疾病患者外周血淋巴细胞亚群进行检测,现将情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 均来自本院 2014—2015 年诊治的感染性疾病患者 106 例,其中细菌感染组(下称细菌组)31 例,革兰阳性球菌(G⁺菌)10 例,革兰阴性杆菌(G⁻菌)21 例;真菌感染组(下称真菌组)13 例;病毒感染组(下称感染组)62 例,包括乙型肝炎病毒组(下称 HBV 组)31 例和登革热病毒组(下称登革热组)31 例。

1.2 纳入标准 细菌组和真菌组均经外周血培养结果为阳性,并进行菌种鉴定。病毒组中,HBV 组经分子生物学诊断技术检测 HBV-DNA>1×10⁴ copy/mL,登革热病毒组经免疫胶体金层析法检测抗登革热病毒 IgM 或 IgG 阳性,或经酶联免疫吸附试验检测登革热 NS1 抗原阳性。各组均为微生物学或

作者简介:陈少艳,女,技师,主要从事临床血液学检验诊断方面的研究。

分子生物学诊断技术证实的感染,诊断参照美国疾控中心及我国原卫生部颁布的感染诊断标准,真菌感染符合临床或确诊标准^[3-4]。

1.3 仪器与试剂 淋巴细胞亚群检测应用美国 Beckman Coulter 流式细胞仪,试剂及质控品均为 Beckman Coulter 公司配套产品。血培养采用 Bact/ALERT 3D 血培养仪,阳性标本转种分离于血平板进行培养,于 VITEK2 全自动微生物鉴定仪进行血培养鉴定,试剂由法国生物梅里埃有限公司提供;应用 ABI7300 型基因扩增仪对病毒进行检测。所有标本检测均严格按照试剂盒说明书及相应仪器标准操作程序进行,并进行实验室质量控制,若检测项目失控,重新检测。

1.4 方法 符合纳入标准的患者,其标本要求为乙二胺四乙酸抗凝的外周全血,并要在 3 d 内进行淋巴细胞亚群检测。利用流式细胞术分别对各例感染性疾病患者以及对对照组外周血淋巴细胞亚群进行检测,并对数据进行整理分析。

1.5 统计学处理 使用 SPSS17.0 统计学软件采集和处理数据,呈正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组间淋巴细胞亚群比较 与对照组比较,病毒组 CD3⁺ T 细胞比率升高,而细菌组和真菌组 CD3⁺ T 细胞比率

差异无统计学意义。真菌组和病毒组,CD4⁺ T 细胞比率均较对照组降低,且真菌组低于病毒组,而 2 组 CD8⁺ T 细胞比率则较对照组升高,且真菌组高于病毒组,所以,2 组的 CD4/CD8 比值均降低。3 组中 NK 细胞(CD16⁺ CD56⁺)比率较对照组均有不同程度降低,其中细菌组明显低于其他 2 组,而真菌组与病毒组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。细菌组中 B 细胞比率升高,其余 2 组 B 细胞比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.2 G⁺菌与 G⁻菌淋巴细胞亚群比较 与对照组比较,G⁺菌和 G⁻菌 CD3⁺ T 细胞比率有升高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),其 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 以及 CD4⁺/CD8⁺ 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在 2 组中 NK 细胞均降低,但 2 组间 NK 细胞差异无统计学意义($P > 0.05$)。而 2 组中 B 细胞比率则升高,其中 G⁺菌较 G⁻菌升高明显,见表 2。

2.3 HBV 组和登革热组淋巴细胞亚群比较 与对照组比较,HBV 组与登革热组 CD3⁺ T 细胞比率均升高,且登革热组升高较 HBV 组明显。在 T 细胞亚群中,登革热组 CD4⁺ 降低,CD8⁺ 升高,CD4⁺/CD8⁺ 降低,HBV 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。而 2 组中 NK 细胞比率均降低,且 HBV 组降低较登革热组明显。2 组中 B 细胞差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 1 各组淋巴细胞亚群检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	NK 细胞(%)	B 细胞(%)
细菌组	69.10±15.60	39.10±11.80	28.30±9.50	1.50±0.70	11.80±8.60 ^{△*}	17.20±13.40 [△]
真菌组	65.30±2.20	25.70±3.70 [△]	36.70±3.20 [△]	0.70±0.20 [△]	16.50±9.20 [△]	11.30±9.40
病毒组	75.40±6.70 [△]	31.40±8.20 [△]	32.30±7.80 [△]	1.00±1.05 [△]	15.30±6.90 [△]	8.40±4.20
对照组	66.00±6.00	36.60±4.60	26.40±6.80	1.50±0.68	21.30±6.30	10.30±4.50

注:与对照组比较,[△] $P < 0.05$;与真菌组和病毒组比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 G⁺菌与 G⁻菌淋巴细胞亚群检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	NK 细胞(%)	B 细胞(%)
G ⁺ 菌组	68.50±12.20	31.42±9.40	25.50±8.60	1.40±0.70	14.90±8.10 [△]	24.70±15.00 ^{△*}
G ⁻ 菌组	69.20±14.40	42.80±11.10	29.50±9.70	1.60±0.60	10.30±8.50 [△]	15.70±10.90 [△]
对照组	66.00±6.00	36.60±4.60	26.40±6.80	1.50±0.68	21.30±6.30	10.30±4.50

注:与对照组比较,[△] $P < 0.05$;与 G⁻菌组比较,* $P < 0.05$ 。

表 3 HBV 组和登革热组淋巴细胞亚群检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	NK 细胞(%)	B 细胞(%)
HBV 组	73.40±6.90 ^{△*}	35.60±9.20	27.30±6.60	1.48±1.39	13.20±6.80 ^{△*}	10.50±4.50
登革热组	77.40±5.70 [△]	32.10±5.40 [△]	37.30±5.30 [△]	0.91±1.02 [△]	17.30±6.40 [△]	6.30±2.50
对照组	66.10±6.00	36.60±4.60	26.40±6.80	1.50±0.68	21.30±6.30	10.30±4.50

注:与对照组比较,[△] $P < 0.05$;与登革热组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨 论

人体的免疫系统主要肩负着免疫防护、免疫稳定以及免疫监视的作用,对入侵的外源性抗原物质如细菌、真菌和病毒,体内出现的异常细胞如肿瘤细胞、胞内微生物感染细胞等,能及时产生免疫应答予以杀灭,不至于造成机体的损伤。但当其结构或功能有缺陷或失调时,就会引起严重的危害人体的传染

病、肿瘤以及自身免疫性疾病等。CD3⁺CD4⁺细胞和 CD3⁺CD8⁺细胞是 T 淋巴细胞中功能相异的 2 个亚群,在机体免疫应答中分别起辅助、诱导和抑制、细胞毒作用,发挥正、负调节作用,形成 T 细胞网络^[5]。其通过细胞间的直接接触或通过释放细胞因子,导致或抑制效应,使免疫应答在双向调控下表现出适当的强度。一般的病原微生物感染不同程度上将引起

Th 淋巴细胞(CD4⁺ 细胞)数量降低,导致 Th/Ts 比值倒置,且以全身性感染时 Th 亚群的这种变化幅度最为明显。临床抗感染治疗有效时,可以观察到 Th 细胞数量上的增加以及 Th/Ts 的比值逐渐恢复。NK 细胞(CD16⁺ CD56⁺):NK 细胞在免疫系统中起着举足轻重的作用。它不依赖抗体、补体及预先致敏即可快速杀死肿瘤细胞,并与单核细胞、粒细胞等协同作用,而起到抗肿瘤、抗感染的免疫调节作用,通常在感染极早期或早期升高,在感染的中后期下降。B 细胞(CD19⁺)升高通常提示细菌性感染^[6]。

本研究结果显示,病毒组和真菌组细胞免疫功能受到影响,均表现为外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺ 细胞降低,CD8⁺ 细胞升高,导致 CD4/CD8 比例倒置,其中真菌组变化更为明显,提示真菌组细胞免疫功能更为紊乱,而病毒组同时伴 CD3⁺ 细胞升高(总 T 细胞),提示病毒组伴有细胞免疫的异常激活^[7]。辅助性 T 细胞(CD4⁺)是获得性免疫的核心调节细胞,因其数量及功能下降,故对非特异性免疫及体液免疫的刺激增殖作用降低,对细胞免疫的调节作用降低,由此导致了宿主对新发感染的不可控,同时由于 CTL 细胞(CD8⁺)功能过度放大而得不到有效调节,可能对机体造成严重的免疫病理损伤^[8]。而 NK 细胞比率在 3 组中均降低,且细菌组降低更为明显,提示患者机体天然免疫受到影响,病原体清除功能受抑。在细菌组中,B 细胞比率升高,提示细菌感染与机体体液免疫密切相关,体液免疫在细菌感染中起着重要的防御作用。且 G⁺ 菌 B 细胞比率升高较 G⁻ 菌明显,提示 G⁺ 菌体液免疫反应较 G⁻ 菌明显。这可能与细菌的结构特点与其释放的毒素代谢产物不同有关,据此可初步鉴别细菌类别。

在病毒组中,HBV 组与登革热组 CD3⁺ 细胞比率均升高,且登革热组升高较明显并伴 CD4⁺ 细胞比率降低和 CD8⁺ 细胞比率升高,导致 CD4⁺/CD8⁺ 比例倒置明显,说明登革热组机体细胞免疫异常激活,免疫功能处于紊乱状态,可能处于感染急性期。而 HBV 组 CD4⁺、CD8⁺ 以及 CD4⁺/CD8⁺ 无明显异常,提示患者可能处于感染初期或非急性期,还有研究发现,HBV 组外周血淋巴细胞亚群结果的差异可能和 HBV-DNA 阳性组病毒载量的高低有关^[9-10]。病毒组中,NK 细胞比率均降低,NK 细胞免疫功能受到抑制,机体清除病毒功能存在障碍。

综上所述,感染性疾病患者普遍存在免疫功能紊乱,天然免疫均受到抑制,而特异性免疫在不同病原体感染中有所不同,其中病毒感染与真菌感染主要是细胞免疫受影响,且真菌

感染受到影响更大。而细菌感染主要与体液免疫有关,且与细菌种类有关,G⁺ 菌体液免疫反应较 G⁻ 菌明显。在病毒感染中,不同病毒所致的感染,其免疫功能状态也有所不同,且可能与感染是否处于急性期有关。

通过检测感染性疾病患者外周血淋巴细胞亚群,可以初步了解受感染患者机体免疫功能状况,并为初步判断病原体类型提供一定依据,对临床进一步诊断和用药提供一定帮助。

参考文献

[1] 龙海燕,冯萍. 感染性疾病实验室诊断技术及其研究进展[J]. 华西医学,2015,30(5):983-986.

[2] 李太生. T 淋巴细胞亚群和病毒感染[J]. 中华内科杂志,2011,50(12):995-998.

[3] Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al. CDC definitions for nosocomial infections[J]. Am J Infect Control, 1989, 17(1):42-43.

[4] 中华内科杂志编辑委员会. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)[J]. 中华内科杂志,2006,45(8):697-700.

[5] 张艳芳,武艳丽,施红梅. 手足口病患儿 T 淋巴细胞亚群与 NK 细胞和血清白介素、TNF-α 变化的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2013,11(20):2604-2606.

[6] 胡莉娜,吴丽娟,古宇,等. 急性呼吸系统感染性疾病流式淋巴细胞亚群检测诊断效率的回顾性调查[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(20):2308-2309.

[7] 刘才冬,张瑞生,高应东,等. 结核感染者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群的检测及其意义[J]. 国际检验医学杂志,2013,12(23):3174-3175.

[8] 田瑛,任东伟,张娟,等. 不同病毒感染后宿主细胞免疫功能的变化与分析[J]. 临床和实验医学杂志,2014,31(16):1379-1381.

[9] 王维维,陈惠,王娟娟,等. 乙型肝炎患者外周血各淋巴细胞亚群绝对值的变化及临床意义[J]. 检验医学与临床,2015,6(6):723-726.

[10] 江浪进. 外周血 T 淋巴细胞亚群的变化及其与慢性乙型肝炎的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,6(11):1370-1371.

(收稿日期:2016-07-14 修回日期:2016-10-22)

(上接第 205 页)

参考文献

[1] 杨永昌,王北宁. 野战医疗所检验装备及开展项目的现状和建议[J]. 人民军医,2007,50(6):387.

[2] 傅占江. 野战检验医学装备现状及发展思路[J]. 医疗卫生装备,2011,32(2):88-89.

[3] 王前,郑磊,张鹏. 战地快速检验的现状和发展趋势[J]. 人民军医,2005,48(2):118-119.

[4] 王缚鲲,李玮,冉向阳,等. 野战应急快速检验系统血细胞分析模块性能的综合评价[J]. 中国医学装备,2014,11

(5):93-95.

[5] Erhabor O, Richardson G, Mohammed I, et al. Evaluation of the QBC star centrifugal three-part differential haematology system[J]. Br J Biomed Sci, 2013, 70(2):67-74.

[6] 李玮,冉向阳,王缚鲲,等. 野战(应急)快速检验系统 A 型与常规实验室血细胞分析仪检测结果比对分析[J]. 中国医学装备,2014,11(6):106-108.

[7] 吴太虎,姚世平,刘光中,等. 野战快速检验系统(A 型)的研制[J]. 医疗卫生装备,2010,31(1):42-44.

(收稿日期:2016-07-15 修回日期:2016-10-22)