

淋巴细胞亚群在脑炎诊断中的临床研究^{*}刘淑静^{1,2}, 魏方泽³, 郑光辉^{1,2}, 刘杰^{1,2}, 司学众^{1,2}, 康熙雄^{1,2}, 张国军^{1,2△}

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院检验科, 北京 100070; 2. 北京市免疫试剂临床工程技术研究中心, 北京 100070; 3. 首都医科大学临床检验诊断学系, 北京 100070)

摘要:目的 通过分析病毒性脑炎和细菌性脑炎的血细胞、淋巴细胞, 探究淋巴细胞及其亚群在病毒性脑炎和细菌性脑炎中的诊断价值。方法 回顾性分析 2015—2019 年北京天坛医院脑炎患者血细胞和淋巴细胞的百分比和绝对计数, 将有意义的指标绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)来验证其诊断效能。结果 共收集病毒性脑炎组患者 99 例, 细菌性脑炎 21 例。病毒性脑炎组的白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、B 淋巴细胞、T 细胞数和抑制性 T 淋巴细胞数显著高于细菌性脑炎组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 病毒性脑炎组的单核细胞百分比、自然杀伤细胞百分比显著低于细菌性脑炎组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。单个指标诊断效能最好的是 B 淋巴细胞, ROC 曲线下面积(AUC)为 0.722。将 B 淋巴细胞与自然杀伤细胞百分比、T 淋巴细胞计数、抑制性 T 细胞计数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、单核细胞百分比和中性粒细胞计数 8 项指标联合联合诊断, AUC 为 0.873。结论 B 淋巴细胞、自然杀伤细胞百分比、T 细胞数、抑制性 T 细胞数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、单核细胞百分比及中性粒细胞计数对于病毒性和细菌性脑炎的鉴别诊断是有意义的, 这 8 项指标的联合诊断效能最好。

关键词:病毒性脑炎; 细菌性脑炎; 淋巴细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.001

中图法分类号:R725.1

文章编号:1673-4130(2019)24-2945-05

文献标识码:A

Clinical study of lymphocyte subsets in the diagnosis of encephalitis^{*}LIU Shujing^{1,2}, WEI Fangze³, ZHENG Guanghui^{1,2}, LIU Jie^{1,2}, SI Xuezhong^{1,2},
KANG Xixiong^{1,2}, ZHANG Guojun^{1,2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100070, China; 2. Beijing Immunology and Clinical Engineering Technology Research Center, Beijing 100070, China; 3. Department of Clinical Laboratory Diagnosis, Capital Medical University, Beijing 100070, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of lymphocytes and their subpopulations in viral and bacterial encephalitis by analyzing blood and lymphocytes. **Methods** The percentage and absolute count of blood cells and lymphocytes in patients with encephalitis in Beijing Tiantan Hospital from 2015 to 2019 were retrospectively analyzed, and the receiver operating characteristic curve (ROC curve) of meaningful indicators was drawn to verify its diagnostic efficacy. **Results** 99 cases of viral encephalitis and 21 cases of bacterial encephalitis were collected. The number of white blood cells, neutrophils, lymphocytes, B lymphocytes, T cells and inhibitory T lymphocytes in viral meningitis group was significantly higher than that in bacterial encephalitis group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The percentage of monocyte and percentage of natural killer cells in viral encephalitis was significantly lower than that in bacterial encephalitis, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The best diagnostic efficacy of individual indicators was B lymphocytes, and AUC was 0.722. Combined diagnosis of B lymphocytes with natural killer cell percentages, T lymphocyte count, inhibitory T cell count, white blood cell absolute count, lymphocyte absolute count, monocyte percentage, and neutrophils count, AUC was 0.873. **Conclusion** B lymphocytes, percentage of natural killer cells, T cell number, inhibitory T cell number, absolute white blood cell count, absolute lymphocyte count, monocyte percentage and neutrophils count are significant for the differential diagnosis of viral and bacterial encephalitis. The combined diagnostic efficacy of these eight indicators is the best.

^{*} 基金项目:北京市医管局“青苗计划”项目(QML20180502);北京市自然科学基金项目(7194261)。

作者简介:刘淑静,女,主治医师,主要从事神经系统疾病的免疫学和分子生物学研究。△ 通信作者, E-mail: tiantanzgj@163.com。

本文引用格式:刘淑静,魏方泽,郑光辉,等.淋巴细胞亚群在脑炎诊断中的临床研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(24):2945-2948.

Key words: viral encephalitis; bacterial encephalitis; lymphocyte subsets

脑炎是常见中枢神经系统疾病,以病毒性脑炎和细菌性脑炎最常见。病毒性脑炎发病率为每 10 万人 1~17 例,细菌性脑炎发病率为每 10 万人 1~2 例^[1]。这两种脑炎的发病与病原体及其释放的毒素直接对中枢神经组织和细胞造成损害及机体在病原体刺激下产生强烈持久的免疫应答而产生的炎性反应有关。淋巴细胞作为机体重要的免疫细胞在病毒和细菌性脑炎中起着重要的作用,包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和自然杀伤细胞 3 种。通过对淋巴细胞的监测,研究在不同病原体感染状态下患者细胞的免疫功能,对辅助诊断疾病及了解疾病发生机制起着重要的作用。

传统诊断病毒性脑炎和细菌性脑炎依赖于找到致病的病原体。目前常用的方法是细菌培养、病毒分离和特异性抗原抗体检测等,这些检测方法耗时长、易污染^[2-3]。本研究通过测定病毒性脑炎和细菌性脑炎患者血细胞及淋巴细胞亚群,探讨淋巴细胞亚群在病毒性脑炎和细菌性脑炎中的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2019 年 2 月在北京天坛医院确诊的住院患者。

1.2 入组标准 具有神经系统感染临床表现,体温大于 38.3℃,头疼,颈部强直等;经抗病毒治疗有效且病毒性抗体检测阳性作为病毒性脑炎组;患者脑脊液培养阳性,有明确的病原体诊断作为细菌性脑炎组。排除存在肿瘤、自身免疫性疾病、严重肝病、肾病和其他感染性疾病的患者。

1.3 仪器与试剂 血白细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞所用仪器为 MINDRAY 公司的血细胞分析仪 CAL8000,试剂为配套试剂。血淋巴细胞使用仪器为 BD 公司的免疫荧光 FACSCanto II 流式细胞仪,试剂为 BD MultitestIUIMK kit 试剂盒。

1.4 方法 血白细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞使用多通道组合分析技术,通过逐一捕获标本中单个细胞的光电信号迅速检测标本中各细胞的水平,并根据各血细胞计数及总细胞数计算各血细胞所占百分比。血淋巴细胞亚群分析采用免疫荧光标记方

法,应用流式细胞术测定荧光信号强度来确定血液中 B 细胞百分比、自然杀伤细胞百分比、T 细胞百分比、辅助性 T 细胞百分比、抑制性 T 细胞百分比、CD4⁺CD8⁺ 双阳细胞百分比、CD4⁻CD8⁻ 双阴细胞百分比、辅助性 T 淋巴细胞与抑制性 T 淋巴细胞之比。根据淋巴细胞亚群的百分比和淋巴细胞总数,估算淋巴细胞亚群的绝对计数。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计数资料采用秩和检验,数据采用中位数表示。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义,将 $P<0.05$ 的项目绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),并计算每一检查项目的 ROC 曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度、截断值等。AUC 的评定标准为优异(0.90~1.00)、良好(0.80~0.89)、适中(0.70~0.79)、较差(0.60~0.69),失败(0.50~0.59)。

2 结果

2.1 基本情况 患者基本情况其中病毒性脑炎组患者共 99 例,其中女 39 例,男 60 例,年龄 14~76 岁,中位数为 33 岁。细菌性脑炎组患者 21 例,其中女 11 例,男 10 例,年龄 16~82 岁,中位数为 45 岁。

2.2 血细胞结果分析 将两组脑炎的血细胞进行比较分析,见表 1。病毒性脑炎组的白细胞数、淋巴细胞数、中性粒细胞数、单核细胞数水平较细菌性脑炎组升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。病毒性脑炎组的单核细胞百分比与细菌性脑炎组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 血淋巴细胞分析

2.3.1 血淋巴细胞亚群百分比计数分析 将两组脑炎的血淋巴细胞亚群细胞百分比进行比较分析,见表 2。病毒性脑炎组中自然杀伤细胞百分比与细菌性脑炎组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3.2 血淋巴细胞亚群绝对计数分析 将两组脑炎的血淋巴细胞亚群细胞数进行比较分析,见表 3。病毒性脑炎组中 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、抑制性 T 淋巴细胞的细胞数与细菌性脑炎组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 脑炎患者血细胞计数和百分比

项目	淋巴细胞 百分比(%)	单核细胞 百分比(%)	中性粒细胞 百分比(%)	白细胞数 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞数 ($\times 10^9/L$)	单核细胞数 ($\times 10^9/L$)	中性粒细胞数 ($\times 10^9/L$)
病毒性脑炎组	0.27(0.20,0.35)	0.06(0.05,0.08)	0.60(0.57,0.75)	7.40(5.74,9.19)	1.87(1.43,2.43)	0.43(0.34,0.61)	4.54(3.75,5.54)
细菌性脑炎组	0.23(0.17,0.34)	0.08(0.06,0.09)	0.67(0.57,0.77)	5.81(4.46,7.91)	1.41(1.08,1.86)	0.41(0.35,0.52)	3.54(2.69,5.31)
P	0.364	0.021	0.655	0.005	0.006	0.233	0.043

2.4 指标的诊断效能 在两组脑炎中共 8 项指标比较差异有统计学意义($P<0.05$),将有显著差异项目进行 ROC 曲线分析,结果见表 4。指标的灵敏度和特

异度差异较大,其中 T 淋巴细胞绝对计数和抑制性 T 淋巴细胞绝对计数的灵敏度较好,T 淋巴细胞绝对计数值,白细胞绝对计数和淋巴细胞绝对计数及单核细

胞百分比的特异度较好,其中 B 淋巴细胞绝对计数值特异度最高。

将诊断指标进行组合,进行联合诊断,结果见表 5。其中抑制性 T 细胞数与淋巴细胞绝对计数联合、B 淋巴细胞和白细胞绝对计数联合、B 淋巴细胞与抑制性 T 细胞数联合、淋巴细胞绝对计数与白细胞绝对计数联合诊断效能,效能适中(AUC>0.7)。B 淋巴细胞与白细胞绝对计数、抑制性 T 细胞数、淋巴细胞绝

对计数四项联合;B 淋巴细胞与抑制性 T 细胞数和白细胞绝对计数三项联合,B 淋巴细胞与自然杀伤细胞百分比、T 淋巴细胞计数、抑制性 T 细胞计数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、单核细胞百分比和中性粒细胞计数共 8 项联合,以及自然杀伤细胞百分比与 T 淋巴细胞计数、单核细胞百分比、中性粒细胞计数四项联合诊断效能,效能较好(AUC>0.8)。

表 2 脑炎患者血淋巴细胞亚群百分比

项目	B 淋巴细胞百分比(%)	自然杀伤细胞百分比(%)	T 淋巴细胞百分比(%)	辅助性 T 淋巴细胞百分比(%)
病毒性脑炎组	11.77(8.92,15.75)	9.16(5.28,12.89)	77.11(72.09,81.51)	42.02(36.81,46.37)
细菌性脑炎组	9.71(7.92,14.83)	11.90(8.66,18.30)	77.08(70.45,80.67)	43.63(31.96,51.87)
P	0.068	0.02	0.553	0.471

续表 2 脑炎患者血淋巴细胞亚群百分比

项目	抑制性 T 淋巴细胞百分比(%)	CD4 ⁺ CD8 ⁺ 双阳细胞百分比(%)	CD4 ⁻ CD8 ⁻ 双阴细胞百分比(%)	辅助性 T 淋巴细胞与抑制性 T 淋巴细胞比值
病毒性脑炎组	31.33(26.08,37.89)	0.80(0.51,1.45)	1.04(-0.32,3.30)	1.28(1.00,1.73)
细菌性脑炎组	29.33(23.61,33.61)	0.72(0.53,1.04)	0.23(-0.76,2.93)	1.51(1.12,2.25)
P	0.141	0.679	0.771	0.174

表 3 脑炎患者血淋巴细胞亚群计数(×10⁸/L)

项目	B 淋巴细胞数	自然杀伤细胞数	T 淋巴细胞数	辅助性 T 淋巴细胞数	抑制性 T 淋巴细胞数	CD4 ⁺ CD8 ⁺ 双阳细胞数	CD4 ⁻ CD8 ⁻ 双阴细胞数
病毒性脑炎组	2.21(1.45,2.89)	1.59(0.79,2.65)	13.90(10.20,18.20)	7.66(5.44,1.03)	5.79(3.76,7.99)	0.15(0.08,0.27)	0.20(0.24,0.68)
细菌性脑炎组	1.86(1.19,2.18)	1.44(0.92,2.55)	10.70(7.43,14.60)	6.45(3.29,8.70)	4.31(2.71,6.28)	0.10(0.046,0.16)	0.02(-0.11,0.41)
P	0.005	0.835	0.017	0.065	0.006	0.118	0.523

表 4 脑炎患者单个项目诊断效能分析

项目	灵敏度	特异度	约登指数	曲线下面积	截断值
B 淋巴细胞数	0.505	0.889	0.394	0.722	2.25(×10 ⁸ /L)
自然杀伤细胞百分比	0.722	0.639	0.361	0.329	10.75(%)
T 淋巴细胞数	0.711	0.667	0.378	0.692	1.12(×10 ⁹ /L)
抑制性 T 淋巴细胞	0.629	0.722	0.351	0.717	4.80(×10 ⁸ /L)
白细胞数	0.598	0.778	0.376	0.710	6.76(×10 ⁹ /L)
淋巴细胞数	0.763	0.611	0.374	0.706	1.42(×10 ⁹ /L)
单核细胞百分比	0.556	0.742	0.298	0.328	0.07(%)
中性粒细胞数	0.670	0.611	0.281	0.651	3.79(×10 ⁹ /L)

表 5 脑炎患者多项目联合诊断效能分析

项目	灵敏度	特异度	约登指数	曲线下面积
1	0.711	0.667	0.378	0.725
2	0.619	0.833	0.452	0.776
3	0.763	0.667	0.430	0.765
4	0.722	0.722	0.444	0.751

续表 5 脑炎患者多项目联合诊断效能分析

项目	灵敏度	特异度	约登指数	曲线下面积
5	0.588	0.944	0.532	0.810
6	0.639	0.889	0.528	0.805
7	0.763	0.944	0.707	0.873
8	0.588	0.944	0.532	0.810

注:1 为抑制性 T 淋巴细胞计数联合淋巴细胞计数;2 为 B 淋巴细胞计数联合白细胞计数;3 为 B 淋巴细胞计数联合抑制性 T 淋巴细胞计数;4 为 淋巴细胞计数联合白细胞计数;5 为 B 淋巴细胞计数与白细胞计数、抑制性 T 淋巴细胞计数及淋巴细胞计数四项联合;6 为 B 淋巴细胞计数与白细胞计数、抑制性 T 淋巴细胞计数三项联合;7 为全部指标联合;8 为自然杀伤细胞百分比与 T 淋巴细胞计数、单核细胞百分比及中性粒细胞计数四项联合

3 讨 论

病毒性脑炎和细菌性脑炎是由各种病毒和细菌等感染引起的软脑膜急性弥漫性炎症,病死率很高且临床表现不典型^[4-5]。一年四季均可发病,可累及脑膜和脑实质,首发症状为发热、头痛、呕吐等脑膜刺激征。病毒性脑炎急性发病时病死率高达 70%,几乎所有的病毒均可致病,其中大多数为肠道病毒。细菌性脑炎病原体以脑膜炎球菌最多,其他病原体还可见流

感杆菌、肺炎球菌、大肠杆菌及其他革兰阳性杆菌、葡萄球菌等^[1]。目前,对于病毒性脑炎和细菌性脑炎诊断的金标准仍是微生物培养,但培养的时间较长^[6]。血常规和淋巴细胞亚群中各项指标在诊断脑膜炎与控制抗菌药物使用发挥着重要的作用。特别是淋巴细胞亚群在脑炎病程中发挥着重要的作用,但相关研究较少。本研究通过对淋巴细胞亚群的监测,了解在不同病原体感染状态下患者细胞的免疫功能,以辅助诊断脑炎的类型。

本研究分为病毒性脑炎和细菌性脑炎两组,通过对本院的 99 例病毒性脑炎和 21 例细菌性脑炎的血细胞和淋巴细胞亚群回顾性分析,找出 8 项具有统计学意义差异标志物。病毒性脑炎组的白细胞数、淋巴细胞数、中性粒细胞数、单核细胞数水平较细菌性脑炎组升高。

本研究中病毒组白细胞数高于细菌组可能是淋巴细胞高所致。由于病毒可直接损伤神经元与胶质细胞,并诱导免疫炎症反应,使机体出现免疫活性细胞,出现混合细胞反应和淋巴细胞反应,故病毒性脑炎组淋巴细胞或单核细胞占优势^[7]。而细菌性脑炎由于细菌入侵,诱导机体产生白细胞介素-6、白细胞介素-8、巨噬细胞、单核细胞产生和释放前列腺素 E2 刺激中性粒细胞数升高,淋巴细胞数下降。故两组脑炎患者的淋巴细胞绝对计数和中性粒细胞绝对计数比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

中性粒细胞占白细胞总数的 51%~75%,内含吞噬素,溶菌酶等,具有趋化作用、杀菌作用和吞噬作用,来源于造血干细胞,在骨髓中分化发育后进入组织或血液^[8-9]。中性粒细胞在非特异性细胞免疫系统中有重要作用,在机体抵御微生物病原体,炎症发生时,它们被趋化性物质吸引到炎症部位。有研究表明白细胞明显增高,且中性粒细胞增高为主时提示细菌性感染^[10-11]。但也有研究表明部分病毒性脑炎早期的中性粒细胞也可升高且占优势^[12-13],这与本研究结果一致。

对淋巴细胞亚群分别所占百分比及绝对计数进行分析比较显示,病毒性脑炎组中 B 淋巴细胞绝对计数、T 淋巴细胞绝对计数、抑制性 T 淋巴细胞绝对计数高于细菌性脑炎组。淋巴细胞作为人体外周血中重要的免疫细胞,在外周血细胞中占 20%~40%,主要分为 T 淋巴细胞, B 淋巴细胞和自然杀伤细胞^[14]。淋巴细胞中 B 淋巴细胞主要参与人体的体液免疫,通过向 T 淋巴细胞呈递抗原, T 淋巴细胞识别抗原并表达产物使 B 淋巴细胞激活转化为浆细胞,进而产生特异性的抗体来实现免疫功能。病毒性脑炎组的 B 淋巴细胞显著高于细菌性淋巴细胞,可能是由于病毒进入细胞后在宿主细胞中快速增殖,不仅可以使人体细胞凋亡,还可以诱发免疫病理反应的抗原。而细菌感染主要取决于菌种的毒力和数量,当细菌侵入人体后

会释放毒素和酶,其致病速度没有病毒的在宿主细胞中复制快,因此病毒性脑炎组的 B 淋巴细胞比细菌性脑炎组高。淋巴细胞中 T 淋巴细胞亚群非常重要, T 淋巴细胞主要分为辅助性 T 细胞,细胞毒性 T 细胞,抑制性 T 细胞和调节性 T 细胞。抑制性 T 淋巴细胞其主要功能为抑制 B 淋巴细胞分化和抑制抗体合成。毒性 T 细胞作用是介导反应的效应细胞^[15]。因此病毒性脑炎组的 Ts 细胞水平高于细菌性脑炎组。

血细胞和淋巴细胞的分析中白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、单核细胞百分比、中性粒细胞绝对计数、B 淋巴细胞绝对计数、自然杀伤细胞百分比、T 细胞数绝对计数及抑制性 T 细胞绝对计数对于病毒性和细菌性脑炎的鉴别诊断差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 B 淋巴细胞、抑制性 T 细胞数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数共四项,诊断效能适中($AUC > 0.7$)。但诊断的灵敏度和特异度差异较大,因此并不能单独诊断脑炎的类型。

将诊断指标进行组合,进行联合诊断,其中抑制性 T 细胞数与淋巴细胞绝对计数联合、B 淋巴细胞和白细胞绝对计数联合、B 淋巴细胞与抑制性 T 细胞数联合、淋巴细胞绝对计数与白细胞绝对计数联合诊断,效能适中($AUC > 0.7$)。B 淋巴细胞与白细胞绝对计数、抑制性 T 细胞数、淋巴细胞绝对计数四项联合; B 淋巴细胞与抑制性 T 细胞数和白细胞绝对计数三项联合联合, B 淋巴细胞与自然杀伤细胞百分比、T 淋巴细胞计数、抑制性 T 细胞计数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数、单核细胞百分比、和中性粒细胞计数共 8 项联合,以及自然杀伤细胞百分比与 T 淋巴细胞计数、单核细胞百分比、中性粒细胞计数四项联合诊断,效能较好($AUC > 0.8$)。其中 8 项指标联合诊断效能最好。

4 结 论

B 淋巴细胞、自然杀伤细胞百分比、T 细胞数、抑制性 T 细胞数、白细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数及单核细胞百分比、中性粒细胞计数对于病毒性和细菌性脑炎的鉴别诊断是有意义的, 8 项联合诊断效能最好。

参考文献

- [1] ALAIN V, ELISABETH B, FABRICE Z. Clinical decision rules for acute bacterial meningitis: current insights[J]. Open Access Emerg Med, 2016, 8(1): 7-16.
- [2] 贺晨, 孙鸿燕, 邵丽筠, 等. 多重 PCR 结合基因芯片技术检测 11 种致病菌方法的建立[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(4): 587-591.
- [3] TARAI B, DAS P. FilmArray® meningitis/encephalitis (ME) panel, a rapid molecular platform for diagnosis of CNS infections in a tertiary care hospital in North India: one-and-half-year review[J]. Neurol Sci, 2019, 40(1): 81-88.

- [4] DEMARCO M L, BURNHAM C A. Diafiltration MALDI-TOF mass spectrometry method for culture-independent detection and identification of pathogens directly from urine specimens[J]. *Am J Clin Pathol*, 2014, 141(2): 204-212.
- [5] 李东菊, 朱元祺, 梁冰. MALDI-TOF MS 用于肺炎克雷伯菌同源性分析的初步研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 20(5): 528-532.
- [6] CEBALLOS-GARZÓN A, CORTES G, MORIO F, et al. Comparison between MALDI-TOF MS and MicroScan in the identification of emerging and multidrug resistant yeasts in a fourth-level hospital in Bogotá, Colombia[J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19(1): 106.
- [7] MONTAÑA S, HERNANDEZ M, FERNANDEZ J S, et al. Molecular characterization of KPC-2-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates from a neurosurgical centre in Argentina[J]. *New Microbes New Infect*, 2018, 24(1): 32-34.
- [8] LIU B, YI H H, FANG J, et al. Antimicrobial resistance and risk factors for mortality of pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* among diabetics: a retrospective study conducted in Shanghai, China[J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12(1): 1089-1098.
- [9] WELKER M, VAN BELKUM A, GIRARD V, et al. An update on the routine application of MALDI-TOF MS in clinical microbiology[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2019, 16(8): 695-710.
- [10] RANJBAR R, FATAHIAN K A, CHEHELGERDI M. Molecular characterization, serotypes and phenotypic and genotypic evaluation of antibiotic resistance of the *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different types of hospital-acquired infections[J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12(1): 603-611.
- [11] GALANI I, SOULI M, NAFPLIOTI K, et al. In vitro activity of imipenem-relebactam against non-MBL carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in Greek hospitals in 2015-2016[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38(6): 1143-1150.
- [12] YOUN J H, DRAKE S K, WEINGARTEN R A, et al. Clinical performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method for detection of certain bla_{KPC}-containing plasmids[J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54(1): 35-42.
- [13] CHEN L, CHAVDA K D, MELANO R G, et al. Comparative genomic analysis of KPC-encoding pKpQIL-like plasmids and their distribution in New Jersey and New York Hospitals [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(5): 2871-2877.

(收稿日期: 2019-03-18 修回日期: 2019-07-12)

(上接第 2948 页)

- [4] WU Y, CHEN M, CUI Y, et al. Viral encephalitis in quantitative EEG[J]. *J Integr Neurosci*, 2018, 17(3/4): 493-501.
- [5] SMD R, HUSSAIN T, ABF A, et al. Gold nanoparticles: A plausible tool to combat neurological bacterial infections in humans[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107(1): 7-18.
- [6] TIMO H, NINA H, SAARA-MARI M, et al. Young male patients are at elevated risk of developing serious central nervous system complications during acute Puumala hantavirus infection[J]. *BMC Infect Dis*, 2011, 11(1): 217.
- [7] WYLLIE D H. Relation between lymphopenia and bacteraemia in UK adults with medical emergencies[J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(9): 950.
- [8] KLEIN R S, GARBER C, HOWARD N. Infectious immunity in the central nervous system and brain function [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(2): 132.
- [9] YAMANAKA A, MOI M L, TAKASAKI T, et al. Utility of Japanese encephalitis virus subgenomic replicon-based single-round infectious particles as antigens in neutralization tests for Zika virus and three other flaviviruses[J]. *J Virol Methods*, 2017, 243(1): 164-171.
- [10] 吴学朕, 刘露, 王春晖, 等. SAA CRP 及白细胞计数对小儿细菌感染性疾病早期诊断的价值[J]. *浙江临床医学*, 2015, 32(12): 2191-2192.
- [11] YOMBI J C, SCHWAB P E, THIENPONT E. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) distribution shows a better kinetic pattern than C-reactive protein distribution for the follow-up of early inflammation after total knee arthroplasty[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2016, 24(10): 3287-3292.
- [12] 陈晓梅, 翁建宇, 邓程新, 等. CLAT 方案治疗难治性急性髓系白血病的疗效观察[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(2): 399-404.
- [13] CUNHA B A. The clinical and laboratory diagnosis of acute meningitis and acute encephalitis[J]. *Expert Opin Med Diagn*, 2013, 7(4): 343-364.
- [14] FRANK A M, BUCHHOLZ C J. Surface-engineered lentiviral vectors for selective gene transfer into subtypes of lymphocytes[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 12(1): 19-31.
- [15] YANG Y, QIN Z, DU D, et al. Safety and short-term efficacy of irreversible electroporation and allogenic natural killer cell immunotherapy combination in the treatment of patients with unresectable primary liver cancer[J]. *Cardio Intervent Radiol*, 2019, 42(1): 48-59.

(收稿日期: 2019-04-22 修回日期: 2019-08-02)