

• 临床检验研究 •

## 微生物感染致机体免疫功能改变的回顾性分析

朱冰<sup>1</sup>, 吴丽娟<sup>1</sup>, 陈雪芹<sup>2</sup>, 刘毓刚<sup>1</sup>

(1. 中国人民解放军成都军区总医院检验科, 成都 610083; 2. 成都医学院 2006 级 610083)

**摘要:**目的 通过对外周血淋巴细胞亚群的检测,探讨微生物感染引起机体免疫功能改变的特征,为临床感染性疾病的诊断提供科学依据。方法 筛选 2009 年 5 月至 2011 年 4 月原发性感染的住院患者 52 例,以三色流式细胞术检测患者外周血淋巴细胞各亚群的含量,并与 194 例健康对照组进行比较。结果 胞外菌和需氧菌感染可引起 T4 细胞相对升高和 T4/T8 比值升高,胞内菌、厌氧菌及真菌感染则引起患者 T8 细胞相对升高和 T4/T8 比值下降;革兰阴性杆菌感染较革兰阳性球菌感染引起的淋巴细胞亚群变化激烈,全身性感染较局部感染引起的淋巴细胞亚群改变更为明显。结论 不同微生物感染引起的机体免疫功能改变是不相同的。

**关键词:**细菌感染; 淋巴细胞亚群; 流式细胞术; 真菌; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1679-03

**Retrospective analysis on the alteration of body's immune function caused by microbiological infection**Zhu Bing<sup>1</sup>, Wu Lijuan<sup>1</sup>, Chen Xueqin<sup>2</sup>, Liu Yugang<sup>1</sup>

(1. Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China;

2. Grade 2006, Chengdu Medical College 610083, China)

**Abstract: Objective** To explore the alteration of peripheral blood lymphocyte subgroups caused by microbiological infection and provide scientific bases for clinical diagnosis of microbiological infection. **Methods** 52 patients with microbiological infections and 194 healthy individuals were enrolled and measured for the levels of lymphocyte subgroups in peripheral blood by using a 3-color flow cytometry. **Results** Levels of T4 cells and T4/T8 ratios increased in patients with infection of non-endotrophic bacteria and oxybiontic microbiological. Levels of T8 cells increased and T4/T8 ratios decreased in patients with infection of endotrophic microbiological, fungus and anaerobic infection. The alterations of lymphocyte subgroups caused by GNB infection were more obvious than those caused by GPC, and the alterations caused by general infection were more intense than those caused by local infection.

**Conclusion** The alterations of immune function caused by various microbiological infections could be different.

**Key words:** bacterial infections; lymphocyte subsets; flow cytometry; fungi; immune function

微生物感染(MI)在临床内、外科疾病中十分常见,伴随流式细胞术(FCM)进入临床,诞生了临床流式细胞计量技术(CFC),其通过 1 组或多组针对血液淋巴细胞表面标志的荧光标记白细胞分化抗原(CD)抗体,在极短的时间内即可对血液淋巴细胞亚群的含量进行测定,进而获得体内免疫功能状态方面的实时信息,辅助临床对感染类型、免疫水平、疗效和预后等作出初步判断,以便及时对症处理<sup>[1]</sup>。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 为 2009 年 5 月至 2011 年 4 月本院住院患者中的原发性感染者 52 例,男 42 例,女 10 例,年龄 1~85 岁,平均(39.3±22.0)岁。入选标准:细菌培养与鉴定资料齐全,常见病毒感染免疫学及基因诊断资料齐全,淋巴细胞亚群检测资料齐全,患者除感染外无其他已知影响机体免疫功能的疾病发生,感染的诊断符合世界卫生组织(WHO)诊断标准<sup>[2]</sup>。健康对照组为 194 例健康体检人员,男 96 例,女 98 例,年龄 19~62 岁,平均年龄 37.4 岁。

**1.2 方法**

**1.2.1 细菌学培养与鉴定** 分离菌以美国 VITEK32 全自动微生物分析仪鉴定到种,标准菌株购于美国典型培养物保藏中心(ATCC),包括大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌等。药敏标准按 2007 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)规定执行。

**1.2.2 病毒学鉴定** 采用 ELISA、胶体金法测定病毒 IgG 和 IgM 型抗体,采用实时定量 PCR(RT-PCR)和实时定量反转录

PCR 测定病毒 DNA 或 RNA 水平。具体实验方法参见试剂盒说明书进行,其中免疫学诊断试剂为苏州新波生物技术有限公司产品,基因诊断试剂为中山大学达安基因股份有限公司产品。

**1.2.3 淋巴细胞亚群测定** 采用三色流式细胞术,SSC/FSC 设门淋巴细胞分析总 T 淋巴细胞(CD3<sup>+</sup>)、T4 细胞(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>)、T8 细胞(CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)、双阴性 T 淋巴细胞(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>)、双阳性 T 淋巴细胞(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)和 T4/T8 比值, B 淋巴细胞(CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>)和自然杀伤(NK)细胞(CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)亚群的含量,具体方法参见文献<sup>[1]</sup>。全部试剂为美国 Beckman Coulter 公司产品,仪器采用 Beckman Coulter XL4-MCL 型流式细胞仪。

**1.4 统计学处理** 应用 Excel 2003 进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用 LSD 分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 不同感染类型患者外周血淋巴细胞亚群检测结果** 将 MI 患者分别按照细菌感染和细菌、病毒混合感染分类,按照感染细胞外寄生菌(胞外菌感染)和感染细胞内寄生菌(胞内菌感染)分类,按照感染需氧菌和感染厌氧菌进行分类,结果发现病毒、胞内菌及厌氧菌感染时,患者 T8 细胞相对升高,导致 T4/T8 比值下降,而细菌、胞外菌和需氧菌感染时则是以 T4 细胞相对升高和 T4/T8 比值升高为特征的,见表 1。

**2.2 不同感染部位患者外周血淋巴细胞亚群测定结果** 见表

2. 全身性感染时,患者外周血总 T 淋巴细胞、双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞百分含量较健康对照组、局部感染(如呼吸系统感染和泌尿系统感染)时明显升高( $P < 0.05$ ),B 淋巴细胞和 NK 细胞则明显减少( $P < 0.05$ )。

2.3 不同菌属细菌和真菌感染患者的外周血淋巴细胞亚群测定结果 将 MI 患者按不同菌属细菌和真菌感染分类进行比较,结果见表 3。

表 1 不同感染类型患者外周血淋巴细胞亚群的含量

组别	n	总 T 淋巴细胞 (%)	T4 细胞 (%)	T8 细胞 (%)	T4/T8	双阴性 T 淋巴细胞 (%)	双阳性 T 淋巴细胞 (%)	B 细胞 (%)	NK 细胞 (%)
健康对照组	194	69.98±5.79	35.25±5.16	25.08±4.34	1.45±0.28	6.17±3.08	0.71±0.36	10.74±3.00	11.56±2.54
MI 组									
细菌感染组	31	71.63±9.76	38.77±9.90	25.75±7.97	1.70±0.81	4.55±2.72	0.58±0.49	12.92±8.78	11.77±5.29
细菌、病毒混合感染组	21	69.27±18.56	21.95±12.14	41.00±17.39*	0.77±0.71*	6.20±5.38	0.58±0.69	7.31±5.16 <sup>△</sup>	9.48±7.04
胞外菌感染组	20	79.53±8.12*	44.87±7.11*	20.87±8.56	2.21±1.05 <sup>#</sup>	8.01±4.69	1.21±0.28*	15.87±8.06*	12.33±5.14
胞内菌感染组	5	58.60±8.69*	24.12±7.14*	33.08±10.84	0.76±0.24 <sup>#</sup>	5.40±3.00	0.81±0.45	4.78±3.68*	15.32±9.91
需氧菌感染组	23	75.98±10.02	45.04±8.17*	23.05±7.68	2.02±0.58*	7.32±4.03	1.06±0.51*	12.12±9.01	13.45±7.00
厌氧菌感染组	3	70.57±11.08	29.17±7.68	40.15±7.77 <sup>#</sup>	0.71±0.45 <sup>#</sup>	5.12±4.35	0.48±0.31	5.98±4.10*	12.43±8.11

\*:  $P < 0.05$ , #:  $P < 0.01$ ,与健康对照组比较。

表 2 不同感染部位患者外周血淋巴细胞亚群的含量

组别	n	总 T 淋巴细胞 (%)	T4 细胞 (%)	T8 细胞 (%)	T4/T8	双阴性 T 淋巴细胞 (%)	双阳性 T 淋巴细胞 (%)	B 细胞 (%)	NK 细胞 (%)
健康对照组	194	69.98±5.79	35.25±5.16	25.08±4.34	1.45±0.28	6.17±3.08	0.71±0.36	10.74±3.00	11.56±2.54
MI 组									
全身性感染组	7	85.37±9.13*	38.10±12.01	37.67±18.44	1.02±0.83	15.84±5.09 <sup>#</sup>	1.93±0.68 <sup>#</sup>	5.14±3.56*	6.16±3.33*
呼吸系统感染组	37	62.91±10.51 <sup>d</sup>	32.30±12.48	29.38±13.07	1.18±0.65	4.20±2.88 <sup>d</sup>	0.64±0.60 <sup>d</sup>	12.74±6.64 <sup>△</sup>	12.47±7.75 <sup>△</sup>
泌尿系统感染组	5	69.70±5.23 <sup>△</sup>	39.00±16.83	24.35±11.97	1.68±1.60	4.05±1.34 <sup>d</sup>	0.75±0.21 <sup>d</sup>	5.15±3.04*	16.10±4.99 <sup>△</sup>

\*:  $P < 0.05$ , #:  $P < 0.01$ ,与健康对照组比较。△:  $P < 0.05$ ,<sup>d</sup>:  $P < 0.01$ ,与全身性感染组比较。

表 3 不同菌属细菌和真菌感染患者外周血淋巴细胞亚群的含量

组别	n	总 T 淋巴细胞 (%)	T4 细胞 (%)	T8 细胞 (%)	T4/T8	双阴性 T 淋巴细胞 (%)	双阳性 T 淋巴细胞 (%)	B 细胞 (%)	NK 细胞 (%)
健康对照组	194	69.98±5.79	35.25±5.16	25.08±4.34	1.45±0.28	6.17±3.08	0.71±0.36	10.74±3.00	11.56±2.54
MI 组									
葡萄球菌属感染组	5	69.95±9.79	34.69±11.05	30.16±10.86	1.33±0.67	4.45±2.05	0.56±0.70	10.78±7.39	9.48±3.46
链球菌属感染组	3	67.13±3.52	38.40±1.33	22.87±4.65	1.61±0.55	3.75±2.21	0.83±0.42	14.17±6.15	15.77±4.54*
肠球菌属感染组	4	55.85±6.52*	29.98±13.40	20.13±7.72	1.88±1.41	4.78±2.92	0.90±1.04	9.48±5.37	12.28±6.18
克雷伯菌属感染组	7	80.30±7.71*	49.17±6.75	22.21±3.98	2.35±0.44 <sup>#</sup>	8.40±5.84	1.39±0.41*	18.12±9.559*	11.09±7.44
大肠埃希菌属感染组	3	63.53±13.30	37.1±10.78	21.80±7.75	1.70±0.46	3.40±5.29	1.13±0.95*	11.20±4.95	11.07±1.95
非发酵菌属感染组	3	76.51±12.75	48.30±5.72*	27.83±2.29	1.80±0.26	7.07±4.27	1.18±0.76*	22.10±9.76*	12.97±4.69
真菌感染组	6	60.42±13.21	23.02±7.44*	32.75±10.15	0.80±0.43*	6.38±7.54	0.53±0.37	10.80±12.98	11.15±6.64

\*:  $P < 0.05$ , #:  $P < 0.01$ ,与健康对照组比较。

### 3 讨 论

机体处于正常情况下,各种淋巴细胞亚群保持一定的数量和比例,相互作用,稳定调节,维持着机体正常的免疫功能。一旦外源病原微生物侵入机体,将引起体内淋巴细胞的免疫应答,打破正常情况下体内各淋巴细胞亚群在数量和比例上的平衡,出现某个或某些淋巴细胞亚群的消长,以抵御病原微生物的感染<sup>[3-5]</sup>。待入侵的病原微生物被完全清除后,各淋巴细胞亚群又重新恢复到正常情况下的平衡状态。CD3<sup>+</sup>T 淋巴细胞即外周血中总的成熟 T 淋巴细胞,其表面的 CD3 分子参与 T

淋巴细胞识别抗原,是 T 淋巴细胞活化信号跨膜传递的关键分子<sup>[6]</sup>。因此,T 淋巴细胞增多提示 T 淋巴细胞免疫功能增强,减少则提示 T 淋巴细胞免疫功能减弱。CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞(也称 T4 细胞)包括诱导性 T 淋巴细胞(Ti 细胞)和辅助性 T 淋巴细胞(Th 细胞),具有辅助 B 淋巴细胞产生抗体的功能,还能够产生 IL-2 和干扰素。T4 细胞增多,提示 B 淋巴细胞产生抗体增多,体内清除病原微生物感染的体液免疫功能越强。CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞(T8 细胞)包括抑制性细胞(Ts)和细胞毒性细胞(Tc)亚群。Ts 能抑制 Th 产生 IL-2,Tc 则具有直接杀伤

感染微生物的靶细胞的功能<sup>[7]</sup>。因此, T8 细胞增多说明体内清除被病原微生物感染的细胞的细胞免疫功能增强。另外, T4 细胞上的 CD4 分子和 T8 细胞上的 CD8 分子, 都是细胞识别外来抗原的关键分子, 在人类白细胞抗原(HLA)限制和 T 淋巴细胞活化信号传递中起重要作用。正常情况下, T4/T8 比值维持在一定范围之内。双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞都是 T 淋巴细胞分化发育的相对幼稚阶段。双阴性 T 淋巴细胞表面有 CD3 表达, 但是尚未表达 CD4 和 CD8 分子, 其在抗原刺激时不能被正常活化<sup>[8]</sup>。双阳性 T 淋巴细胞表面不仅含有 CD3 分子, 同时还含有 CD4 和 CD8 分子, 是没有完成阳性筛选的 T 淋巴细胞, 同样在遭遇抗原刺激时不能被正常活化发挥免疫效应。正常情况下, 双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞存在于胸腺, 待其表面 CD4 和 CD8 分子完成表达、阳性筛选和阴性筛选后才释放进入外周血。因此, 正常情况下, 外周血双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞的含量是稀少的。B 淋巴细胞是体内专职产生抗体、执行体液免疫功能以清除游离感染病原微生物的淋巴细胞。NK 细胞则是体内的非特异性免疫细胞, 病原微生物感染机体, 主要是 NK 细胞在第一时间参与感染免疫应答, 清除外来病原体<sup>[9]</sup>。

本研究结果显示, 胞外菌和需氧菌感染时, 外周血以 T4 细胞相对升高和 T4/T8 比值升高为特征; 胞内菌、真菌及厌氧菌感染时, 则是以 T8 细胞相对升高和 T4/T8 比值下降为特点。革兰阴性杆菌感染尤其是克雷伯菌属引起的感染, 外周血淋巴细胞亚群改变的幅度较革兰阳性球菌感染引起的变化大, 全身性感染又较局部感染引起的淋巴细胞亚群改变更为明显。可见, 不同类型的 MI 引起机体的免疫应答存在差异性, 胞外菌和需氧菌感染以 T4 细胞效应的体液免疫为主要特征, 同时 B 淋巴细胞亚群增高; 胞内菌、真菌及厌氧菌感染则以 T8 细胞效应的细胞免疫功能为主要特征<sup>[10]</sup>。不同 MI 引起机体免疫

功能的上述不同变化, 其机制目前仍不清楚, 但是观察到该现象有利于临床对 MI 作出快速分类诊断, 有利于临床针对不同类型感染的药物选择。

参考文献

[1] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 1, 78-88, 119-122, 124-127.

[2] World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide[M]. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 2002.

[3] Lazarevic V, Nolt D, Flynn JL. Long-term control of Mycobacterium tuberculosis infection is mediated by dynamic immune responses[J]. J Immunol, 2005, 175(2): 1107-1117.

[4] 许晓军, 邱大发, 郭子文, 等. 急性白血病患者侵袭性真菌感染后的免疫功能改变[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(12): 762-765.

[5] Skendros P, Boura P, Chrisagis D, et al. Diminished percentage of CD4<sup>+</sup> lymphocytes expressing interleukine-2 receptor alpha in chronic brucellosis[J]. J Infect, 2007, 54(2): 192-197.

[6] 陈采凤, 刘彦信, 郑德先. TCR/CD3 介导 T 细胞活化的信号途径[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(10): 970-975.

[7] 李红平, 赵遼, 毛万姮, 等. 胃黏膜 TGF-β<sub>1</sub> 在幽门螺杆菌感染中的表达及与外周血 T 细胞亚群变化的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(5): 506-511.

[8] 黄立锋, 姚咏明. 双阴性调节性 T 细胞在免疫抑制中的作用及其机制[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2007, 27(2): 93-99.

[9] 罗源, 刘朝晖. 自然杀伤细胞在细菌性肺炎中的免疫效应作用[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(2): 94-98.

[10] 刘建强, 李秀武, 杨志英, 等. 肺结核并呼吸衰竭患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 河北医药, 2010, 32(15): 2075-2076.

(收稿日期: 2011-06-10)

(上接第 1678 页)

对 B 淋巴细胞发育和免疫球蛋白合成的调节功能降低, 引起了 B 淋巴细胞抗体产生不足及免疫球蛋白的转换不良而易感染发病<sup>[9]</sup>。因此, 对 RRTI 患儿除应常规抗感染治疗外, 还应加强免疫功能调节治疗, 以改善机体细胞免疫功能。当然, 影响免疫功能的因素众多, 机体的营养状况、维生素和微量元素水平、体质等因素可能均需要评估<sup>[9-12]</sup>, 才能提供更好的个体化免疫功能调节方案。本研究采用了流式细胞术检测 RRTI 患儿的 T 淋巴细胞亚群, 与国内外类似报道中采用的红细胞花环直接法<sup>[6]</sup>、T 淋巴细胞亚群 McAb 联合 S-P 药盒法<sup>[7]</sup>、ELISA 法<sup>[8]</sup>比较, 更加快捷、方便和准确, 更易于在临床上应用推广, 并能及时评估 RRTI 患儿的免疫状况, 为治疗方案的优化提供准确的依据。由于利用流式细胞仪检测淋巴细胞亚群对 RRTI 患儿研究时间较短, 未能评估 T 淋巴细胞的功能状态, 且本研究的样本量比较小, 是本研究的不足之处, 这有待在后续进一步的研究中改进提高。

参考文献

[1] 胡仪吉. 反复呼吸道感染的诊断标准[J]. 中华儿科杂志, 1988, 26(1): 41.

[2] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 78-88.

[3] Herrnry G, Bluiss S, Valenski R, et al. Cell-mediated immune status of children with recurrent infection[J]. J Pediatr, 1995, 126

(4): 530-536.

[4] Dacel J, Zoot AF. Humoral immunodeficiency in recurrent upper respiratory tract infections. Some basic, clinical and therapeutic features[J]. Acta Otorhinolaryngol Belg, 2000, 54(3): 373-390.

[5] 陈爱萍, 杨蕴华, 王松玲. 测定 T 淋巴细胞亚群观察小儿细胞免疫功能[J]. 山西职工医学院学报, 1995, 5(1): 9-10.

[6] 周小燕, 余华, 邓朝霓. 反复呼吸道感染儿童外周血 T 淋巴细胞亚群检测的临床意义[J]. 医学检验, 2008, 28(10): 77, 105.

[7] 陈尚德, 卢芳萍, 张盛洪. 小儿反复呼吸道感染 T 淋巴细胞亚群的变化: 附 31 例报告[J]. 临床儿科杂志, 1996, 14(3): 203, 205.

[8] 李建平. 哮喘及反复呼吸道感染患儿 T 淋巴细胞亚群和 IgE 的测定与分析[J]. 中国厂矿医学, 2005, 18(6): 505-506.

[9] 蒋利平, 杨锡强, 李成荣, 等. 儿童血清免疫球蛋白 G 亚类缺陷及其与反复呼吸道感染的关系[J]. 中华儿科杂志, 1990, 28(2): 79-81.

[10] Singh M. Recurrent lower respiratory tract infections in children[J]. Indian J Pediatr, 1999, 66(6): 887-893.

[11] 赵黎光, 马凯. 反复呼吸道感染与微量元素的关系[J]. 中国医药导报, 2006, 3(18): 62.

[12] Brook I, Shah K. Bacteriology of adenoids and tonsils in children with recurrent adenotonsillitis[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110(9): 844-848.

(收稿日期: 2011-06-10)