

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.11.031

深圳地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群参考区间的建立*

王甩艳¹, 黄涛², 卢文深¹, 莫红梅^{1△}

1. 广东省深圳市罗湖区人民医院医学检验科, 广东深圳 518001;
2. 广东省深圳市儿童医院检验科, 广东深圳 518026

摘要:目的 建立深圳地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群的参考区间。方法 2018 年 7 月 1 日对在广东省深圳市罗湖区人民医院和广东省深圳市儿童医院健康体检的 268 例健康儿童使用迈瑞流式细胞仪和四色试剂检测淋巴细胞亚群各参数值。依据 CLSI-CA28-A3 文件要求, 分析、建立并验证淋巴细胞亚群参考区间。结果 不同性别儿童淋巴细胞亚群的各项指标中 CD3⁺CD4⁺%、CD3⁺CD8⁺%、CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同性别儿童其他指标水平比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群 CD3⁺(%) 的参考区间为 56.75~85.53, 男、女性 CD3⁺CD4⁺(%) 分别为 25.98~63.50、29.65~65.37, 男、女性 CD3⁺CD8⁺(%) 分别为 11.85~36.31、11.50~32.90, 男、女性 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值分别为 0.76~3.34、0.92~3.74, CD3⁻CD19⁺ 为 3.43%~28.51%, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 为 2.50%~20.76%, CD3⁺ 为 484~4 106 个/微升, CD3⁺CD4⁺ 为 212~2 740 个/微升, CD3⁺CD8⁺ 为 43~1 431 个/微升, CD3⁻CD19⁺ 为 97~811 个/微升, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 为 107~593 个/微升。结论 深圳地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群的参考区间具有适用性。

关键词:健康儿童; 淋巴细胞亚群; 参考区间
中图分类号:R446.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2023)11-1630-04

体内不同的免疫功能状态是辅助临床疾病诊断、探索疾病发病机制、病程、预后、监测、指导临床治疗方案的重要依据之一。淋巴细胞或淋巴细胞亚群的数量和功能变化在临床各种类型免疫缺陷症、自身免疫性疾病及肿瘤等疾病的诊疗中具有十分重要的作用。在免疫性疾病和血液疾病中儿童时期淋巴细胞亚群会发生剧烈变化, 外周血淋巴细胞亚群的免疫表型能否为诊治提供重要信息也取决于年龄匹配的健康个体的参考值, 已有很多学者在各种种族人口中对外周血淋巴细胞亚群的参考范围进行了评估^[1-5]。然而国内目前尚无统一的 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群的参考区间。因此, 建立本地区的淋巴细胞亚群的参考区间是十分重要和必要的。本研究建立了深圳地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群的相对和绝对数量的参考区间, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 7 月 1 日在广东省深圳市罗湖区人民医院和广东省深圳市儿童医院健康体检的 268 例 0~2 岁健康儿童外周血标本检测淋巴细胞亚群的相关数据, 其中男 136 例, 女 132 例。依据《中华人民共和国卫生行业标准 WST-402-2012》收集相关数据。排除标准: (1) 患有黄疸、自身免疫性疾病、恶性黑色素瘤、中枢神经系统病变等; (2) 肝、肾功能不全; (3) 体检结果异常; (4) 近期出现发热、咳嗽等

不适; (5) 近期有用药史。

1.2 仪器与试剂 仪器为迈瑞 BriCyte E6 流式细胞仪, 依据标准操作程序检测淋巴细胞亚群各参数值。使用迈瑞 CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC 四色试剂和 CD3-FITC/CD16⁺CD56⁺-PE/CD45-PerCP/CD19-APC 四色试剂。

1.3 方法

1.3.1 室间质量评价 2017 年 10 月至 2021 年 10 月实验室皆参加全国临床检验室间质量评价淋巴细胞亚群 10 个检验项目全部合格, 保证了检测结果的正确度。

1.3.2 建立参考区间^[6]

1.3.2.1 标本采集与检测 按试剂盒说明书要求采集儿童血清, 用上述仪器及试剂进行检测。

1.3.2.2 数据中疑似离群值的判断 采取 Dixon 法判断离群值。将疑似离群点和其相邻点的差值 D 和数据全距 R 相除, D/R 应 $\leq 1/3$, 超出 1/3 考虑为离群点。若有 ≥ 2 个疑似离群点可将最小的疑似离群点如上进行处理。若 $> 1/3$ 则剔除所有数据; 若 $< 1/3$ 则保留所有数据。

1.3.2.3 分组 按性别分组, 采用统计学方法比较组间差异, 若差异有统计学意义则在保证每组标本数为 120 例的条件下重新计算参考区间; 若差异无统计学意义则无需重新计算参考区间。

* 基金项目: 广东省深圳市罗湖区软科学研究计划项目(LX20190707); 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201601062)。
△ 通信作者, E-mail: 437897734@qq.com。

1.3.2.4 参考区间的验证 采用小样本参考个体的验证,选择 20 例健康儿童外周血标本(符合相应的排除标准)对参考区间进行验证,20 例参考个体中<2 例的数值在参考区间之外则参考区间适用。

1.4 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件进行数据分析。采用 Q-Q 图检验进行正态性检验,呈正态分布的数据采用 95%参考值范围($\bar{x} \pm 1.96s$)计算参考区间,两组间比较采用 *t* 检验;非正态分布数据采用单侧 95%分位数法(P_{95})计算参考区间,两组间比较采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 淋巴细胞亚群各参数频数分布 男、女性儿童

淋巴细胞亚群参数呈正态分布,其中 $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ 比值近似正态分布,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 表示参考区间。

2.2 不同性别儿童淋巴细胞亚群各项指标比较 女性儿童 $CD3^+CD4^+$ %、 $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ 比值均高于男性, $CD3^+CD8^+$ %低于男性,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。不同性别儿童其他指标水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1、2。

2.3 淋巴细胞亚群的参考区间 深圳地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群 T、B、NK 细胞的相对数、绝对数的参考区间见表 3、4。

表 1 不同性别儿童外周血淋巴细胞亚群 T、B、NK 细胞相对数 ($\bar{x} \pm 1.96s$)

性别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺ (%)	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)
男	136	71.43±7.37	44.74±9.57	24.08±6.24	2.05±0.93	16.29±6.53	10.19±4.74
女	132	70.84±7.32	47.51±9.11	22.20±5.46	2.33±0.90	15.64±6.28	11.13±5.54
<i>t</i>		0.651	-2.43	2.630	-2.499	0.830	-1.488
<i>P</i>		0.516	0.016	0.009	0.013	0.407	0.138

表 2 不同性别儿童外周血淋巴细胞亚群 T、B、NK 细胞绝对数 ($\bar{x} \pm 1.96s$, 个/微升)

性别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺
男	136	2 285±989	1 416±659	765±393	525±331	340±258
女	132	2 306±855	1 538±628	708±308	514±291	360±214
<i>t</i>		-0.178	-1.552	1.313	0.280	-0.696
<i>P</i>		0.859	0.122	0.190	0.780	0.487

表 3 外周血淋巴细胞亚群 T、B、NK 细胞相对数的参考区间

淋巴细胞亚群	均数	标准差	中位数	最小值	最大值	95%CI
CD3 ⁺ (%)	71.14	7.34	71.26	48.22	87.61	56.75~85.53
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)						
男	44.74	9.57	43.72	27.20	73.78	25.98~63.50
女	47.51	9.11	47.01	28.00	69.32	29.65~65.37
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)						
男	24.08	6.24	24.08	8.36	40.84	11.85~36.31
女	22.20	5.46	21.74	10.48	36.92	11.50~32.90
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺						
男	2.05	0.66	1.86	0.73	5.83	0.76~3.34
女	2.33	0.72	2.18	0.98	4.95	0.92~3.74
CD3 ⁻ CD19 ⁺ (%)	15.97	6.40	15.57	4.14	40.10	3.43~28.51
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)	10.65	4.16	10.08	4.02	26.90	2.50~20.76

表 4 外周血淋巴细胞亚群 T、B、NK 细胞绝对数的参考区间 (个/微升)

淋巴细胞亚群	均数	标准差	中位数	最小值	最大值	95%CI
CD3 ⁺	2 295	924	2 142	335	5 609	484~4 106
CD3 ⁺ CD4 ⁺	1 476	645	1 365	191	3 401	212~2 740
CD3 ⁺ CD8 ⁺	737	354	682	110	2 288	43~1 431
CD3 ⁻ CD19 ⁺	499	205	445	75	1 629	97~811
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	350	124	306	45	1 226	107~593

2.4 参考区间验证结果 女性儿童中 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值不在建立的参考区间范围内 1 例,其余检测值均在参考区间范围内,故建立的参考区间适用于本地区儿童。见表 5。

表 5 外周血淋巴细胞亚群参考区间验证结果(*n* = 20)

淋巴细胞亚群	95%CI	通过例数(<i>n</i>)
CD3 ⁺ (%)	56.75~85.53	20
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)		
男	25.98~63.50	10
女	29.65~65.37	10
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)		
男	11.85~36.31	10
女	11.50~32.90	10
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺		
男	0.76~3.34	10
女	0.92~3.74	9
CD3 ⁻ CD19 ⁺ (%)	3.43~28.51	20
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)	2.50~20.76	20
CD3 ⁺ (个/微升)	484~4 106	20
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (个/微升)	212~2 740	20
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (个/微升)	43~1 431	20
CD3 ⁻ CD19 ⁺ (个/微升)	97~811	20
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (个/微升)	107~593	20

3 讨 论

淋巴细胞是人体发挥免疫功能的重要组分,尤其是在儿童抗感染免疫中发挥着重要作用,是防卫病原体入侵最有效的武器。根据其生物功能和细胞表面抗原表达情况分为 NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁺)、T (CD3⁺)、B(CD3⁻CD19⁺)淋巴细胞不同亚群^[7]。T 淋巴细胞是淋巴细胞的主要组分,具有多种生理学功能,是人体细胞免疫功能状态的重要指标,T 淋巴细胞水平升高多为发生超敏反应,降低则多表示机体免疫功能降低,易发生感染。成熟 T 淋巴细胞可根据其细胞表面 CD4、CD8 的表达不同分为 CD4⁺T 淋巴细胞 (CD3⁺CD4⁺)和 CD8⁺T 淋巴细胞(CD3⁺CD8⁺)。其中 CD4⁺T 淋巴细胞主要为辅助性 T 细胞,既可通过产生细胞因子辅助细胞免疫和体液免疫,同时也可起到免疫抑制的作用。CD4⁺T 淋巴细胞增高容易出现超敏反应,发生自身免疫性疾病,降低则易发生感染等。CD8⁺T 淋巴细胞主要为细胞毒性 T 淋巴细胞,是免疫反应中的直接杀伤性细胞,可通过释放毒性蛋白导致细胞凋亡从而杀伤靶细胞。其增加可导致严重的免疫缺陷,减少可发生过强的免疫反应。另外辅助性 T 淋巴细胞与细胞毒性 T 淋巴细胞比值 (CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺)也有其一定的意义,升高常表明细胞免疫功能处于极度活跃状态,常见于自身

免疫性疾病;比值降低则相反,表明细胞免疫功能处于免疫抑制的状态,常见于免疫缺陷病、感染性疾病,如恶性肿瘤、呼吸道感染等。B 淋巴细胞也是淋巴细胞的主要组分之一,能通过产生分泌各种免疫球蛋白和抗体,从而介导体液免疫应答^[8]。其水平升高一般与变态反应性疾病和感染性疾病相关,降低常见于免疫缺陷病和感染性疾病。NK 细胞是机体重要的免疫细胞,发挥介导病原体感染细胞的细胞毒作用^[9],在抗肿瘤、抗病毒感染、免疫调节中发挥着重要作用。因此,不同的免疫应答途径会使淋巴细胞亚群水平出现不同变化,即淋巴细胞及其亚群的消长能反映机体在不同条件下免疫功能的变化,可用于与免疫系统明显相关疾病的辅助诊断、判断病情、评估预后、指导治疗及疗效监测,而提供这一重要信息依据于年龄匹配的健康个体的参考值。

本研究收集了深圳地区 0~2 岁健康儿童的淋巴细胞亚群检测的相关数据,比较了不同性别的差异,结果显示,女性儿童 CD3⁺CD4⁺%、CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值均高于男性,CD3⁺CD8⁺% 低于男性,差异均有统计学意义(*P* < 0.05);不同性别儿童淋巴细胞亚群绝对数比较,差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。淋巴细胞亚群各参数值以 Q-Q 图检验进行正态性检验,由此采用 $\bar{x} \pm 1.96s$ 计算参考区间,得出了淋巴细胞亚群各项指标的 95%CI,并经验证其是适用的,表明可将此参考区间用于临床进行疾病的诊断和治疗监测。

综上所述,对 0~2 岁儿童这一特殊群体国内外目前尚无统一的淋巴细胞亚群的健康人群参考区间。及早发现儿童非正常细胞免疫状态可及早明确重症感染的原因和原发性疾病的诊断,而 0~2 岁儿童淋巴细胞亚群存在较大差异,并且不同地区实验室所用的流式细胞仪不同、试剂不同、对试验数据处理的方法也有差异。因此,建立本地区 0~2 岁健康儿童淋巴细胞亚群的参考区间无论是对今后的基础研究还是当前临床诊治均显得尤为重要和必要。

参考文献

[1] SHEARER W T,ROSENBLATT H M,GELMAN R S, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age-the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study[J]. J Allergy Clin Immunol,2003,112 (5):973-980.

[2] VAN GENT R,VAN TILBURG C M,NIBBELKE E E, et al. Refined characterization and reference values of the pediatric T- and B-cell compartments[J]. Clin Immunol, 2009,133 (1):95-107.

[3] HUENECKE S,BEHL M,FADLER C, et al. Age-matched lymphocyte subpopulation reference values in childhood and adolescence;application of exponential regression analysis[J]. Eur J Haematol,2008,80 (6):532-539.

[4] TOSATO F, BUCCIOL G, PANTANO G, et al. Lymphocytes subsets reference values in childhood[J]. Cytometry A, 2015, 87(1): 81-85.

[5] JIA L, LI J, ZHANG Y, et al. Age- and sex-related reference intervals of lymphocyte subsets in healthy ethnic Han Chinese children[J]. Cytometry A, 2015, 87(12): 1116-1126.

[6] 吴爽, 张书婉, 张涛元, 等. 西安地区 0~12 岁健康儿童血清 S100 蛋白参考区间的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 124-126.

[7] COMANS-BITTER W M, GROOT R D, RENEVAND EN B, et al. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood Reference values for lymphocyte subpopulations[J]. J Pediatr, 1997, 130(3): 388-393.

[8] ZHAO R, ZHANG Y, ZHANG X, et al. Exosomal long noncoding RNA HOTTIP as potential novel diagnostic and prognostic biomarker test for gastric cancer[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 68.

[9] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

(收稿日期: 2022-10-19 修回日期: 2023-01-22)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 11. 032

类风湿关节炎合并感染的临床特点研究

陈水绵¹, 许超尘², 饶华春¹

福建省泉州市正骨医院: 1. 检验科; 2. 强直性脊柱科, 福建泉州 362000

摘要:目的 分析类风湿关节炎(RA)患者治疗过程中合并感染的病原菌分离情况、流行病学特点、临床特点及预后。方法 选择 2014 年 9 月至 2021 年 9 月该院收治的住院≥2 次的 RA 患者 835 例, 根据是否合并感染分为未感染组(619 例)和感染组(216 例)。分析两组患者的临床特点、合并感染的菌群种类、感染部位等。结果 835 例患者合并感染发生率为 25. 87%, 例次感染率为 31. 02%, 多重感染率为 5. 56%, 多次感染率为 14. 81%, 严重感染率为 4. 17%, 病死率为 0. 93%。呼吸系统(40. 54%)、泌尿系统(27. 80%)及皮肤组织(15. 44%)是最常见的感染部位, 多部位感染以呼吸系统合并其他感染为主。共分离病原菌 170 株。感染病原菌以革兰阴性菌为主(64. 12%), 主要为大肠埃希菌(32. 94%, 产超广谱β-内酰胺酶大肠埃希菌株占 16. 07%)、金黄色葡萄球菌(18. 82%, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌占 6. 25%)、肺炎克雷伯菌(7. 06%)和铜绿假单胞菌(6. 47%)。感染组患者年龄、病程、男女比例、合并糖尿病的例数均大于未感染组, 9 例严重感染者均为混合感染且有激素使用史, 88. 89% 同时有免疫抑制剂使用史; 预后不良 4 例, 死亡 2 例。结论 RA 患者并发细菌感染并不少见, 临床表现无特异性, 且可出现致死性感染, 细菌谱及耐药性监测对控制细菌感染具有重要意义, 应尽早根据药敏试验结果指导下进行抗感染治疗, 值得临床医生重视。

关键词: 类风湿关节炎; 感染; 临床特点
中图分类号: R593. 22 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2023)11-1633-05

感染是类风湿关节炎(RA)患者常见并发症, 发生率高于健康者^[1], 可能与疾病本身的免疫紊乱、并发症、长期使用免疫抑制剂或调节的药物有关^[2]。许多 RA 患者反复住院治疗, 随着各类抗菌药物的广泛使用, RA 患者合并感染常见病原菌构成比及药物敏感性也不断变化, 只有了解这种变化趋势及病原学特征才能针对性地提高对 RA 患者合并感染的临床认识。本研究分析了 835 例确诊为 RA 患者病原菌分离情况、流行病学特点、临床特点及预后, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 9 月至 2021 年 9 月本院收治的住院≥2 次的 RA 患者 835 例。根据是否合并感染分为未感染组(619 例)和感染组(216 例), 因感染而下过病危通知书者纳入严重感染病例。RA 的诊断符合美国风湿病学会 1987 年修订的 RA 分类

(诊断)标准或 2010 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟修订的诊断标准。感染的诊断主要依据病原学证据或典型影像学、临床表现: (1) 血液、尿液、痰液、伤口分泌物等培养出致病菌; (2) 影像学检查提示肺内感染; (3) 部分如典型的皮肤带状疱疹、上呼吸道感染等未进行病原菌检查但通过临床表现即可确诊者。RA 并发感染患者包括医院内感染和入院前已存在的感染, RA 并发医院获得性感染患者符合原卫生部颁布的合并医院内感染诊断标准^[2]。排除标准: (1) 合并其他自身免疫性疾病; (2) 并发严重脑血管病致长期卧床; (3) 并发肿瘤性疾病; (4) 人类免疫缺陷病毒感染; (5) 病例资料不完整。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集完整的病史资料, 包括患者姓名、性别、年龄、住院时间、既往史等; 临床资料包括病程、出院诊断、其他合并疾病、感染部位及感染次