

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002795

CD4⁺、CD8⁺T 细胞监测在 ICU 重症患者并发获得性真菌感染临床评估中的价值分析

赵乙记, 余应喜, 范 晶

(重庆医科大学附属第一医院急诊与重症医学科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨重症监护室(intensive care unit, ICU)内的重症患者获得性真菌感染的特点,以及分化簇(cluster of differentiation, CD)4⁺、CD8⁺T 细胞免疫功能对获得性真菌感染临床评估中的价值。**方法:**纳入 2017 年 1 月至 2019 年 12 月入住重庆医科大学附属第一医院重症医学科并送检标本培养出真菌阳性的患者。根据诊断标准分为真菌感染组(49 例)与定植组(37 例)。记录并分析急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分, ICU 住院时间, 是否合并脓毒症、进行深静脉置管、机械通气、使用激素及广谱抗生素。收集标本取样 48 h 内患者体温、呼吸频率、脉率等生命体征, CD4⁺T 细胞百分比、CD8⁺T 细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺比值等 T 细胞检测值。采用二元 logistic 回归进行感染危险因素分析并建立预测模型, 同时获得预测概率。运用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析上述指标对诊断真菌感染价值进行评价。**结果:**感染组中, APACHE II 评分($P=0.045$)、合并脓毒症例数($P=0.049$)、机械通气例数($P=0.011$)、体温($P=0.049$)明显高于定植组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。其余指标在评估真菌感染与定植的比较中没有统计学意义($P>0.05$)。对首次培养结果不同的菌株种类进行亚组分析, 发现各组别间 T 细胞检测值无统计学差异($P>0.05$)。进行 logistic 回归分析感染组与定植组中 T 细胞检测值建立预测模型一, 对其预测概率进行分析($P=0.013$); 再对合并脓毒症例数与 T 细胞检测值分析所得的预测概率(预测模型二)进行分析($P=0.024$); 对 ICU 入住时间、APACHE II 评分、合并脓毒症、进行深静脉置管、机械通气、使用激素、使用广谱抗生素、T 细胞检测值分析所得预测概率(预测模型三)进行分析($P=0.025$)。根据 ROC 曲线分析 APACHE II 评分[曲线下面积(area under curve, AUC)=0.577]、体温(AUC=0.487)、CD4⁺T 细胞(AUC=0.515)、CD8⁺T 细胞(AUC=0.565)及 CD4⁺/CD8⁺比值(AUC=0.438)。预测模型一(AUC=0.611)及预测模型二(AUC=0.653)对评估获得性真菌感染的诊断价值较低。预测模型三(AUC=0.757)对评估获得性真菌感染的诊断价值更高。**结论:**ICU 重症患者中合并脓毒症、机械通气者更易感染真菌; 合并脓毒症的患者结合 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞检测值, 对获得性真菌感染的诊断具有提示性作用; 且当脓毒症患者入住 ICU 时存在诸如侵入性操作、激素及广谱抗生素使用等危险因素后, 更容易发生获得性真菌感染。

【关键词】真菌感染; CD4⁺T 细胞; CD8⁺T 细胞; 脓毒症**【中图分类号】**R519**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2021-03-04

Value of CD4⁺ and CD8⁺ T cell monitoring in the clinical evaluation of ICU patients with acquired fungal infection

Zhao Yisi, Yu Yingxi, Fan Jing

(Department of Emergency and Critical Care Medicine,
The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the characteristics of acquired fungal infections in critically ill patients in the intensive care unit (ICU), and the value of CD4⁺ and CD8⁺ T cell immune function in the clinical evaluation of acquired fungal infections. **Methods:** The fungus-positive patients admitted to the Department of Critical Care Medicine of The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from January 2017 to December 2019 were included in the study. According to the diagnostic criteria, they were divided into fungal infection group (49 cases) and colonization group (37 cases). The acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) scores, days of ICU, whether there was complication of sepsis, deep venous catheterization, mechanical ventilation, the use of hormones and broad-spectrum antibiotics were recorded and analyzed. The patients' vital signs such as body temperature, respiratory rate and pulse rate, and the test values of T cells such as the percentage of CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells percentage and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ were collected from specimens within 48 h. Binary logistic regression was used to analyze the risk factors of infection and establish a prediction model, mean-

作者介绍: 赵乙记, Email: zhaoyisi14@foxmail.com,

研究方向: 重症医学

通信作者: 范 晶, Email: 286445733@qq.com。

基金项目: 重庆医科大学-重庆医科大学附属第一医院临床医学研究
生联合培养基地资助项目(编号: lnpj202001)。优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210419.1138.004.html>
(2021-04-20)

while the predictive probability was obtained. The receiver operating characteristic(ROC) curve was used to analyze the above indicators and evaluate the diagnostic value of fungal infections. **Results:** In the infection group, the APACHE II score ($P=0.045$), the number of cases with sepsis ($P=0.049$), the number of mechanical ventilation cases ($P=0.011$), and the body temperature ($P=0.049$) were significantly higher than those in the colonization group. It is statistically significant ($P<0.05$). The other indicators were not statistically significant in evaluating the comparison of fungal infection and colonization ($P>0.05$). According to the subgroup analysis of different strains of the first culture results, it was found that there was no statistical difference in the T cell detection value among different groups ($P>0.05$). Logistic regression analysis was carried out to analyze the T cell detection values in the infection group and the colonization group and to establish a prediction model 1, and its prediction probability was analyzed ($P=0.013$); then the prediction probability (prediction model 2) of the number of patients complicated with sepsis and the T cell detection value was analyzed ($P=0.024$); the predicted probability of ICU duration, APACHE II scores, sepsis complication, deep venous catheterization, mechanical ventilation, use of hormones, use of broad-spectrum antibiotics, and T cell detection values (prediction model 3) were analyzed ($P=0.025$). According to ROC curve analysis, the area under curve(AUC) of APACHE II scores was 0.577, body temperature (0.487), CD4⁺T cells (0.515), CD8⁺T cells (0.565) and CD4⁺/CD8⁺ ratio (0.438). Prediction model 1 (AUC=0.611) and prediction model 2 (AUC=0.653) were of low value in evaluating the diagnosis of acquired fungal infections. Prediction model 3 (AUC=0.757) was of higher diagnostic value for evaluating acquired fungal infection. **Conclusion:** Severe ICU patients with sepsis or mechanical ventilation are more susceptible to fungal infection; while patients with sepsis combined with the detection of CD4⁺ T cells and CD8⁺ T cells, it has a suggestive effect on the diagnosis of acquired fungal infection; and when patients with sepsis are admitted to the ICU and have risk factors of fungal infection such as invasive procedures, hormones and broad-spectrum antibiotics, they are more susceptible to fungal infections.

[Key words] fungal infection; CD4⁺ T cell; CD8⁺ T cell; sepsis

重症监护室(intensive care unit, ICU)内的危重症患者容易感染真菌。有文献研究,重症患者获得性真菌感染的易感原因有介入性操作如机械通气、深静脉置管,使用激素,使用广谱抗生素,ICU 住院时间及低免疫状态等^[1],而 ICU 危重症患者往往存在低免疫状态,如脓毒症患者因体内免疫耗竭、免疫抑制等多种原因而存在低免疫状态,出现 T 细胞免疫状态的改变^[2]。这类患者出现获得性真菌感染,将导致其 ICU 内住院时间、机械通气时间、再入院率、死亡率增加^[3]。因此,寻找预测获得性真菌感染的模型,早期诊断并预防真菌感染,对改善其不良预后具有重要意义。本文通过回顾性病例对照研究,分析探讨了 ICU 内的重症患者获得性真菌感染特点,以及 T 细胞免疫功能对获得性真菌感染的提示性作用。

1 研究方法

1.1 一般资料

研究对象选取重庆医科大学附属第一医院 2017 年 1 月至 2019 年 12 月入住重症医学科并送检标本培养出真菌阳性的患者,均由重庆医科大学附属第一医院微生物室出具正式报告。并将其分为感染组与定植组,感染组诊断标准参考“中华医学会重症医学分会侵袭性真菌感染(invasive fungal infection,IFI)指南”与“中国 IFI 工作组 2020 年(第六次修订

版)侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则”中提出的确诊及临床诊断标准:①确诊:深部组织感染;真菌血症;导管相关性真菌血症。②临床诊断:至少具有 1 项危险(宿主)因素;且有可能感染部位的 1 项主要临床特征或 2 项次要临床特征,并同时具备至少 1 项微生物学检查结果阳性^[4-5]。其余病例考虑为定植组。本研究排除标准:年龄小于 18 岁者。入住 ICU 时间<48 h 或>100 d。患者合并艾滋病病毒感染。信息缺失者。本研究符合医学伦理学标准,且已获得本院伦理委员会审查及批准,并经患者或家属的知情同意。

1.2 观察指标及收集方法

回顾性收集入选患者一般资料,如年龄、性别、ICU 住院时间,急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分用于评估 ICU 患者危重程度。收集是否合并脓毒症(脓毒症诊断标准符合“Sepsis-3.0”),是否进行深静脉置管、机械通气、使用激素、使用广谱抗生素等资料。统计所有阳性标本情况。收集标本取样 48 h 内患者体温、呼吸频率、脉率等生命体征,分化簇(cluster of differentiation, CD)4⁺T 细胞百分比、CD8⁺T 细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺比值等 T 细胞实验室检查。

1.3 统计学处理

所有数据均采用 SPSS25.0 进行统计学分析。一般正态计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态计量资料用 $M_d(P_{25}, P_{75})$ 表示;计数资料用率(%)表示。2 组间的分类变量比较使用卡方检验,连续变量服从正态分布的指标使用 t 检验比较,服从偏态分布的指标使用非参数检验比较。使用单因素方差分析对大于 2 组之间服从正态分布的指标进行分析。采用二元 logistic 回归进行感染危险因素分析并建立预

测模型,同时获得预测概率。运用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线对诊断真菌感染价值进行评价。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 收集的基本信息

本研究共入选 307 例样本,排除缺少 T 细胞检验 173 例、艾滋病毒感染患者 2 例、入住 ICU 时间 >100 d 27 例、入住 ICU 时间 <48 h 18 例、年龄 <18 岁 1 例,最终共纳入 86 例患者(图 1)。

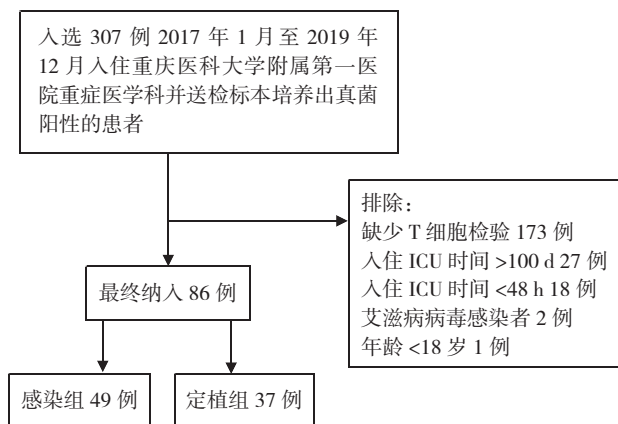


图 1 样本纳入流程图

研究对象中,男性 57 例(66.3%),合并脓毒症患者 43 例(50.0%),进行深静脉置管者 68 例(79.1%),进行机械通气者 57 例(66.3%),使用激素者 27 例(31.4%)。所有患者均存在某一部位标本培养真菌阳性,其中 23 例患者培养出多种真菌。共培养出 113 例真菌菌株,其中未明确的酵母菌 22 例(19.5%),白色念珠菌 46 例(40.7%),热带念珠菌 16 例(14.2%),光滑念珠菌 11 例(9.7%),近平滑念珠菌 5 例(4.4%),其他念珠菌 4 例(3.5%),未明确的曲霉 2 例(1.8%),烟曲霉 2 例(1.8%),黄曲霉 3 例(2.7%),隐球菌 1 例(0.9%),其他类型真菌(丝状真菌)1 例(0.9%)。

2.2 定植组和感染组一般资料、临床特点、生命体征及 T 细胞检测值比较

真菌定植组与感染组的一般情况、ICU 住院时间、APACHE II 评分、合并脓毒症例数、行深静脉置管例数、机械通气例数、使用激素及广谱抗生素例数、体温、脉率、呼吸频率、CD4⁺T 细胞占比、CD8⁺T 细胞占比、CD4⁺/CD8⁺比值见表 1。结果显示,在真菌感染组,APACHE II 评分、合并脓毒症例数、机械通气例数及体温明显高于定植组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。其余指标如 CD4⁺T 细胞占比、CD8⁺T 细胞占比、CD4⁺/CD8⁺比值不具有统计学差异($P>0.05$)。再对首次培养结果不同的菌株种类进行亚组分析,分为念珠菌组($n=65$)、非念珠菌组($n=9$)、未确定的酵母菌组($n=12$);进一步将念珠菌分为白色念珠菌组($n=37$)、非白色念珠菌组($n=28$),分析各组别间 T 细胞检测值,结果无统计学差异($P>0.05$)(表 2、表 3)。

表 1 定植组和感染组的比较($n, \%; \bar{x} \pm s$)

指标	定植组($n=37$)	感染组($n=49$)	χ^2/Z 值	P 值
男性	22 (59.5)	35 (71.4)	1.351	0.245
年龄/岁	64.89 $\pm$ 19.07	63.08 $\pm$ 17.60	0.456	0.886
ICU 住院时间/d	13.19 $\pm$ 10.63	18.24 $\pm$ 14.69	-1.771	0.126
APACHE II 评分	19.86 $\pm$ 5.06	21.94 $\pm$ 6.36	-1.632	0.045
合并脓毒症	14 (37.8)	29 (59.2)	3.842	0.049
深静脉置管	26 (70.3)	42 (85.7)	3.038	0.081
机械通气	19 (51.4)	38 (77.6)	6.475	0.011
使用激素	10 (27.0)	17 (34.7)	0.575	0.448
广谱抗生素	34 (91.9)	46 (93.9)	0.128	0.720
体温/ $^{\circ}\text{C}$	37.04 $\pm$ 0.72	37.17 $\pm$ 1.00	-0.666	0.049
脉率(次 $\cdot\text{min}^{-1}$)	103.86 $\pm$ 20.69	102.35 $\pm$ 20.55	0.338	0.850
呼吸频率/(次 $\cdot\text{min}^{-1}$)	21.68 $\pm$ 4.09	22.63 $\pm$ 5.01	-0.937	0.219
CD4 ⁺ T 细胞/%	33.85 $\pm$ 12.89	34.87 $\pm$ 14.87	-0.337	0.354
CD8 ⁺ T 细胞/%	25.51 $\pm$ 12.17	30.25 $\pm$ 16.49	-1.471	0.168
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.62 $\pm$ 0.90	1.75 $\pm$ 1.82	-0.380	0.061

表 2 亚组分析:念珠菌组和非念珠菌组的 T 细胞比较($\bar{x} \pm s$)

指标	念珠菌组($n=65$)	非念珠菌组($n=9$)	未确定的酵母菌组($n=12$)	F 值	P 值
CD4 ⁺ T 细胞 /%	34.96 $\pm$ 13.93	31.09 $\pm$ 19.21	34.09 $\pm$ 10.14	0.302	0.740
CD8 ⁺ T 细胞 /%	27.67 $\pm$ 14.51	33.85 $\pm$ 20.50	26.89 $\pm$ 12.40	0.729	0.485
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.79 $\pm$ 1.61	1.13 $\pm$ 0.70	1.60 $\pm$ 1.21	0.795	0.455

表 3 亚组分析:念珠菌组间不同菌株的 T 细胞比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	白色念珠菌组 (n=37)	非白色念珠菌组 (n=28)	t/Z 值	P 值
CD4 ⁺ T 细胞/%	34.19 ± 12.65	35.98 ± 15.64	0.512	0.142
CD8 ⁺ T 细胞/%	24.65 ± 12.39	31.68 ± 16.29	1.978	0.121
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.89 ± 1.71	1.66 ± 1.48	-0.548	0.850

2.3 比较 T 细胞检测值在合并脓毒症中的影响

根据“Sepsis-3”^[6],将患者分为脓毒症组与非脓毒症组,比较 2 组间 CD4⁺T 细胞占比、CD8⁺T 细胞占比、CD4⁺/CD8⁺比值(表 4),其中,脓毒症组 CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平均低于非脓毒症组,但差异无统计学意义($P>0.05$),而 CD4⁺/CD8⁺高于非脓毒症组,存在统计学差异($P=0.011$)。

表 4 脓毒症组和非脓毒症组中 T 细胞的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	脓毒症组 (n=43)	非脓毒症组 (n=43)	t/Z 值	P 值
CD4 ⁺ T 细胞/%	32.66 ± 12.15	36.21 ± 13.75	1.179	0.265
CD8 ⁺ T 细胞/%	26.59 ± 17.16	29.84 ± 12.20	1.012	0.062
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.94 ± 1.89	1.45 ± 0.90	-1.545	0.011

2.4 联合 T 细胞检测值及临床特点建立真菌感染预测模型并分析

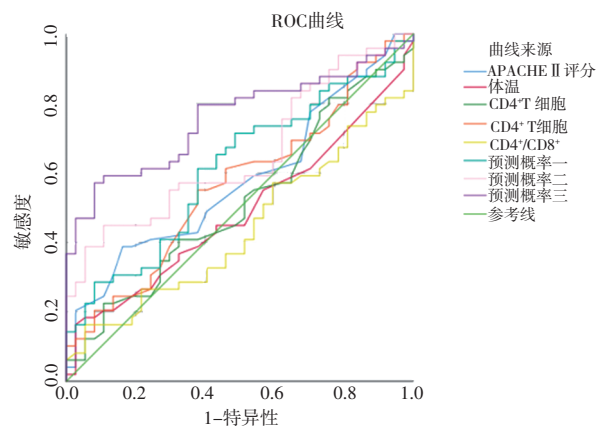
对感染组与定植组中 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值进行 logistic 回归分析后所得的预测概率(预测概率一)进行分析,差异具有统计学意义($P=0.013$)。再对合并脓毒症例数与 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值进行 logistic 回归分析后所得的预测概率(预测概率二)进行分析,差异具有统计学意义($P=0.024$),同时建立预测模型二。使用同样的方法对 ICU 入住时间、APACHE II 评分、合并脓毒症、进行深静脉置管、机械通气、使用激素、使用广谱抗生素、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值进行 logistic 回归分析建立预测模型三,对所得预测概率(预测概率三)进行分析,差异具有统计学意义($P=0.025$)。

2.5 各指标对真菌感染的诊断价值评估

根据 ROC 曲线分析并计算曲线下面积(area under curve, AUC)值(表 5, 图 2),APACHE II 评分、体温、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值的 AUC 值为 0.577、0.487、0.515、0.565、0.438,提示单独使用上述指标对真菌感染诊断的评估价值较低。预测概率一及预测概率二 AUC 值为 0.611、0.653,高于前述指标,说明上述 2 个模型对评估获得性真菌感染的诊断有一定价值。预测概率三 AUC 值为 0.757,明显高于前述指标,提示模型三对评估获得性真菌感染的诊断价值更高。

表 5 各指标评价患者真菌感染的 ROC 曲线下面积及截断值

项目	曲线下面积	截断值	灵敏度	特异度
APACHE II	0.577	24.50	0.388	0.838
体温	0.487	38.55	0.163	0.973
CD4 ⁺ T 细胞	0.515	46.75	0.224	0.892
CD8 ⁺ T 细胞	0.565	26.57	0.551	0.622
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.438	3.10	0.163	0.946
预测概率一	0.611	0.538	0.612	0.622
预测概率二	0.653	0.630	0.449	0.892
预测概率三	0.757	0.625	0.571	0.919



注:对角线由绑定值生成

图 2 各指标 ROC 曲线及曲线下面积

3 讨论

真菌感染是 ICU 内常见感染,研究发现 ICU 内真菌感染占病原学第三位,约为 19%,仅次于 G-菌与 G⁺菌^[7]。而 ICU 患者感染真菌后会增加不良结局的概率,其中有流行病学报告发现 ICU 内曲霉菌感染的院内死亡率约 46%^[3]。本研究从 T 细胞免疫入手,结合重症患者获得性真菌感染的危险因素,旨在寻找一种预测模型,以预测 ICU 内重症患者获得性真菌感染的发病风险,对临床上进行早期诊断提供思路。本研究发现 APACHE II 评分越高,即越危重的患者,越容易真菌感染,这可能是由于机体免疫进一步受到抑制,且合并多种有创干预措施。而在机体的免疫功能中,T 细胞免疫中的 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞占比和比值,能反映机体免疫状态的重要变化^[8]。

T 细胞依据表面表达的 2 种辅助受体分子,即 CD4 和 CD8 来分类,CD4 和 CD8 对 T 细胞发育、抗原识别及成熟 T 细胞激活都很重要。其中 CD4 是一种由 12 号染色体上的基因编码的 55 kD 跨膜糖蛋白。它是免疫球蛋白超家族的一员,胞膜外区具有 4 个 Ig 样结构域^[9]。而 T 细胞可分为具有调节作用的

T 细胞和细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL)。其中大多数具有调节作用的 T 细胞表达 CD4, 这类 CD4⁺T 细胞亚群主要包括辅助 T 细胞 (helper T cell, Th) 1、Th2、Th17 和调节 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 等^[10]。这些亚群产生不同的细胞因子和表面标志物, 对机体的免疫状态起调节作用。在不同的真菌感染中, 这些 T 细胞亚群为机体抵抗真菌感染提供不同的作用^[11]。当机体进入低免疫状态, CD4⁺T 细胞比例减少, 则继发真菌感染的概率大大增加^[12]。而 CTL 主要表达 CD8, 由 α 和 β 两条多肽链组成, 由 2 号染色体上的基因编码。这类 CD8⁺T 细胞主要在淋巴组织中获得效应功能, 之后进入外周循环, “搜寻”感染细胞并将其杀灭。同时可分泌多种细胞因子, 如 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF), 这些因子可能直接损伤靶细胞或抑制微生物复制, 在机体抵御真菌感染中发挥重要作用^[13]。有研究观察到白色念珠菌感染后, CD8⁺T 细胞分泌增多, CD4⁺/CD8⁺比率降低^[14]。同样的, 在机体免疫功能低下时, CD8⁺T 细胞减少会导致真菌感染概率增加。而真菌也会对机体产生的免疫作出不同反应, 如曲霉菌可下调宿主炎症反应, 抑制机体 Th1 或 Th17 细胞因子产生, 从而表现出免疫逃逸行为^[15]。当念珠菌感染机体后, 能检测到 Th2 细胞因子白细胞介素 (interleukin, IL)-10 表达增加, 其同样能减弱 Th1 细胞亚群的免疫保护作用, 加深感染损伤^[16]。

本研究对重庆医科大学附属第一医院 3 年 ICU 内送检标本培养真菌阳性的患者进行了回顾性研究, 将其分为感染组与定植组, 然而本研究分析得出影响获得性真菌感染因素的结果大多为阴性, 且并未发现 T 细胞与真菌感染之间存在统计学差异。联合监测 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值与获得性真菌感染存在差异性, 但其预测概率 (预测概率一) 的 AUC 值并不优异, 提示对获得性真菌感染的诊断价值并不高。ICU 内患者由于病情危重, 往往合并其他疾病或治疗。本研究发现真菌感染与合并脓毒症相关。有研究表明, 脓毒症患者同样存在 T 细胞功能异常, 在 ICU 内死亡的脓毒症患者尸检中发现, 脾脏 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞等免疫细胞大量缺失, IFN- γ 、TNF 等细胞因子表达降低, 提示脓毒症患者存在严重免疫抑制^[17]。即使是目前大流行的新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 引起的脓毒症, 也同其他病原体相关脓毒症一样, 会导致机体持续的淋巴细胞耗竭与免疫抑制^[18]。故考虑脓毒症患者更易发生真菌感

染的原因可能为 T 细胞功能异常^[19]。因此本研究对 T 细胞在脓毒症组与非脓毒症组中的变化进行了研究, 并以感染为结局, 合并脓毒症与 T 细胞检测值建立预测模型二, 发现该预测模型对预测真菌感染的价值较模型一优势不明显。这可能与脓毒症发生后机体免疫功能随时间的变化有关。有研究者认为脓毒症患者淋巴细胞的最初下降存在 2 个独立过程, 首先是由于淋巴细胞从外周循环中被募集到感染和炎症区域, 而此阶段机体内的淋巴细胞仍表现出一定抵抗感染的功能; 其次脓毒症诱发的多种刺激会触发淋巴细胞凋亡, 导致机体持续的低免疫状态^[19]。虽然研究尚未发现脓毒症患者免疫功能从早期的抵抗感染状态转变为淋巴细胞凋亡后的低免疫状态的确切时间点, 但已有研究对比发现在脓毒症病程第 4 天时, 显著的淋巴细胞减少才与患者继发感染、增加死亡率有关^[21]。此外, 最新研究发现 CD4⁺ CD8⁺记忆 T 细胞会调节机体的免疫反应, 以改善器官功能衰竭、提高生存率, 这对抵抗继发真菌感染可能也有一定帮助^[22]。因此本研究中纳入的脓毒症患者, 在疾病早期似乎还未引起显著的获得性真菌感染。但在模型二基础上, 再合并重症患者获得性真菌感染的危险因素: ICU 入住时间、APACHE II 评分、进行深静脉置管、机械通气、使用激素、使用广谱抗生素^[1]建立模型三, 其 ROC 曲线的 AUC 面积较单一使用 APACHE II 评分、体温、T 细胞检测值及预测模型一、二均明显可靠。这说明当脓毒症患者入住 ICU 时, 存在诸如侵入性操作、激素及广谱抗生素使用等危险因素后, 对获得性真菌感染的诊断价值明显增高。

临床上对真菌的感染诊断十分困难, 往往需要通过耗时且条件苛刻的无菌标本才能确诊为真菌感染^[4-5]。而本文尝试通过 T 细胞途径, 建立预测模型, 对预测真菌感染的新思路进行了研究。研究发现联合监测合并脓毒症、T 细胞检测值以及获得性真菌感染危险因素 (预测模型三) 对真菌感染诊断的评估更有效, 提示危重患者的 T 细胞功能变化, 可能对 ICU 患者发生真菌感染有一定的影响。该预测模型所包含指标在临床上较容易获得, 能够较为方便且快捷地对即将出现的获得性真菌感染起预警作用, 对指导临床工作者尽早去除危险因素、干预其免疫状态可能有一定的帮助。但该模型的预测概率最佳截断值为 0.625, 并非显著优异, 考虑与本研究存在的局限性有关: 作为单一的回顾性研究, 由于样本量过少, 导致指南中提出的与真菌感染有关的风险在本研究中并未出现差异性, 如: ICU 住院时

间、深静脉置管、使用激素、使用广谱抗生素等^[1,4]；同时脓毒症患者中的免疫抑制结果不明显，这或许是受限于本研究纳入样本以真菌阳性为特点，缺乏更加随机、全面的脓毒症病例。本研究纳入的样本为标本培养出真菌阳性的患者，但临床上由于真菌培养耗时且对标本质量要求较高，且可能在病原学培养证据出现之前进行“抢先治疗”^[23]，故许多患者表现为真菌培养阴性的“未确定侵袭性真菌病”^[24]。本研究未纳入该类患者，结果可能存在偏倚风险；而其他同样影响 T 细胞免疫的疾病及治疗手段，是否会增加真菌感染的可能性，如合并实体瘤、进行干细胞移植等也需要进一步探讨。除此之外，白色念珠菌、非白色念珠菌、曲霉菌等不同类别的真菌因其菌株生物特征、侵袭力、毒性的不同，感染能力及 T 细胞免疫反应存在一定差异。本研究按真菌菌株类别进行了亚组分析，但 T 细胞检测值在各个亚组之间无明显统计学差异，这可能是由于本研究纳入的样本中以念珠菌尤其是白色念珠菌为主，并且部分真菌标本未能确定菌株类别，因此在更大样本量能满足的情况下，建议对不同菌株进行亚组分析研究。总之，诊断真菌感染的方法要更加快速便捷，则需要联合临床与多种实验室检查，更需要进行大样本的研究，以探寻更加快速且能提高真菌临床诊断率的新思路。临床上，一些常见的 ICU 疾病诸如脓毒症会影响患者的 CD4⁺、CD8⁺T 细胞功能，其往往还伴随多种侵入性操作、激素治疗等临床操作，从而增加获得性真菌感染的概率。而此类因免疫低下而导致的感染并非只见于真菌感染中，对其他病原体包括细菌、耐药菌、病毒甚至新型冠状病毒的感染概率也会增加。这样看来，对 ICU 内的获得性真菌感染，以及目前仍在全球大流行的 COVID-19，恰当地进行免疫治疗似乎也是能获益的。

参 考 文 献

- [1] Muskett H, Shahin J, Eyres G, et al. Risk factors for invasive fungal disease in critically ill adult patients: a systematic review[J]. Crit Care, 2011, 15(6): R287.
- [2] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4⁺ T lymphocytes in humans[J]. J Immunol, 2001, 166(11): 6952–6963.
- [3] Baddley J, Stephens J, Ji X, et al. Aspergillosis in intensive care unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 29.
- [4] 中华医学会重症医学分会. 重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南(2007)[J]. 中华内科杂志, 2007, 46(11): 960–966.
- [5] 中国医师协会血液科医师分会, 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(10): 754–763.
- [6] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801–810.
- [7] Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units[J]. JAMA, 2009, 302(21): 2323–2329.
- [8] van der Putten C, Remmerswaal EBM, Terpstra ML, et al. CD8 and CD4 T cell populations in human kidneys[J]. Cells, 2021, 10(2): 288.
- [9] Richmond J, Tuzova M, Cruikshank W, et al. Regulation of cellular processes by interleukin-16 in homeostasis and cancer[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(2): 139–147.
- [10] Schmitt N, Ueno H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines[J]. Curr Opin Immunol, 2015, 34: 130–136.
- [11] 赵乙汜, 余应喜, 林时辉, 等. T 细胞免疫在脓毒症继发侵袭性真菌感染中作用的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, 39(11): 1325–1328.
- [12] Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis[J]. Ther Clin Risk Manag, 2014, 10: 95–105.
- [13] Henkart PA, Calfano M. CD8⁺ effector cells[J]. Adv Immunol, 2004, 83: 233–252.
- [14] Alvarez-Rueda N, Rouges C, Touahri A, et al. *In vitro* immune responses of human PBMCs against *Candida albicans* reveals fungal and leucocyte phenotypes associated with fungal persistence[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6211.
- [15] Speth C, Rambach G, Lass-Flörl C, et al. Galactosaminogalactan (GAG) and its multiple roles in *Aspergillus pathogenesis*[J]. Virulence, 2019, 10(1): 976–983.
- [16] Romani L, Puccetti P. Protective tolerance to fungi: the role of IL-10 and tryptophan catabolism[J]. Trends Microbiol, 2006, 14(4): 183–189.
- [17] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure[J]. JAMA, 2011, 306(23): 2594–2605.
- [18] Dong X, Wang C, Liu X, et al. Lessons learned comparing immune system alterations of bacterial sepsis and SARS-CoV-2 sepsis[J]. Front Immunol, 2020, 11: 598404.
- [19] Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study[J]. Lancet Respir Med, 2016, 4(4): 259–271.
- [20] Hotchkiss R, Tinsley K, Swanson P, et al. Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(25): 14541–14546.
- [21] Drewry A, Samra N, Skrupky L, et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality[J]. Shock, 2014, 42(5): 383–391.
- [22] Taylor M, Fernandes T, Kelly A, et al. CD4 and CD8 T cell memory interactions alter innate immunity and organ injury in the CLP sepsis model[J]. Front Immunol, 2020, 11: 563402.
- [23] 纪宇, 黄晓军. 抗真菌抢先治疗策略的发展及临床应用[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(4): 327–329.
- [24] 胡炯. 未确定侵袭性真菌病的诊断和治疗: 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准和治疗原则解读[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(6): 395–397.

(责任编辑: 冉明会)