

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.30.027

1 191 例新生儿脐血感染生物学指标参考区间调查分析*

杨瑞兰¹, 彭祖菊¹, 贺雨², 王泉秀¹, 张维¹

(1. 四川省达州市大竹县妇幼保健院新生儿中心 635100; 2. 重庆医科大学
附属儿童医院新生儿中心 400014)

[摘要] **目的** 探讨健康足月新生儿脐血中提示早发细菌感染的生物标志:超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、降钙素原(PCT)、白细胞介素(IL)-6、IL-8、血小板(PLT)、白细胞总数(WBC)在该地区的参考区间。**方法** 搜集 2012 年 1 月到 2013 年 10 月重庆医科大学附属儿童医院足月新生儿脐带血 1 476 例,最终纳入 1 191 例健康足月新生儿脐血,检测脐血中 hs-CRP、PCT、IL-6、IL-8、PLT、WBC 的变化,采用 SAS9.0 处理数据,对相关数据应用上下(上)限进行描述,应用秩和检验分析组间差异。**结果** 正常足月新生儿脐血 hs-CRP 参考上限为 3.1 mg/L, PCT 参考上限为 0.18 ng/mL。IL-6、IL-8 参考区间为 56.6(11.9~133.2)ng/L、976.0(111.7~2 507.1)ng/L, PLT 参考区间为 242.0(120.0~339.0)×10⁹/L, WBC 参考区间为 12.9(7.6~19.3)×10⁹/L, 脐血血小板值在剖宫产组中较顺产组低(230 vs. 254, Z=4.301, P<0.05), 不同孕周,各感染生物学标志差异无统计学意义(P>0.05)。早发败血症患儿的 CRP、PCT 升高(P<0.05), IL-6、IL-8、WBC、PLT 与健康患儿比较,差异无统计学意义(P>0.05)。**结论** 该研究建立了健康足月新生儿脐血中细菌感染生物学标志的参考区间,为新生儿早期细菌感染的诊断奠定了基础。

[关键词] 新生儿;脐血;早期感染;生物标志

[中图分类号] R722.13

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)30-4258-04

Regional reference intervals of biomarkers for diagnosis of early onset bacterial infection: based on the data derived from 1 191 umbilical blood of healthy term newborns*

Yang Ruilan¹, Peng Zujun¹, He Yu², Wang Quanxiu¹, Zhang Wei¹

(1. Department of Neonatology, Maternal and Child Care Service Centre of Dazhou County, Dazhou, Sichuan 635100, China; 2. Department of Neonatology, the Affiliated Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

[Abstract] **Objective** To explore the regional reference intervals of biomarkers in umbilical blood for diagnosis of early onset bacterial infection in the healthy term newborns. **Methods** The umbilical blood samples were collected from 1 476 term newborns in our hospital during January 2012 to October 2013, of which 1 191 were healthy infants and enrolled in this study. Then the levels of high sensitive c- reaction protein(hs-CRP), procalcitonin(PCT), interleukin(IL)-6, IL-8, platelet(PLT) as well as white blood cell(WBC) were detected in the umbilical blood. These values were analyzed by SAS 9.0, data were described through upper or lower limits or upper limits respectively. Differences among different subgroups were judged through analysis of Kruskal-Wallis *t* test or Mann-Whitney test respectively. **Results** The upper limits for hs-CRP was 3.1 mg/L, for PCT was 0.18 ng/mL, while the reference interval for IL-6 was 56.6(11.9~133.2)ng/L, and IL 8 was 976.0(111.7~2 507.1)ng/L, PLT was 242.0(120.0~339.0)×10⁹/L and for WBC was 12.9(7.6~19.3)×10⁹/L, and the value of PLT varied from vaginal delivery group to caesarean section group(230 vs. 254, Z=4.301, P<0.05); no significant differences were found in these biomarkers among different gestational week specific groups (P>0.05). Otherwise, compared with the regional reference intervals, CRP and PCT in early onset neonatal sepsis group increased(P<0.05), no significant difference was found for IL-6, IL-8, WBC and PLT(P>0.05). **Conclusion** The reference intervals of biomarkers in umbilical blood for diagnosis of early onset bacterial infection were established which may make great contribution for early diagnosis of bacterial infection for the newborns.

[Key words] newborns; umbilical blood; early on set infection; biomarkers

细菌感染是新生儿期常见疾病,是导致新生儿死亡的主要原因之一,存活者有相当一部分发生后遗症。然而其早期诊断困难,现有的检测手段,如抽取新生儿的血标本做血培养、生物标志物检测等对新生儿细菌感染的检测仍存在着阳性率低、耗时长,以及抽血增加患儿痛苦和导致或加重贫血等局限^[1]。研究发现,脐带血作为新生儿最早的血标本,有很好的诊疗指导价值^[2],是替代新生儿早期外周血检查的潜在方案之一,在达

到检查目的的同时,可避免外周血检查给新生儿所带来的不良影响。国外研究脐带血感染生物标志物发现 C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、白细胞介素(IL)-6、IL-8 等与新生儿感染有一定关系^[3],但往往集中于某一特定标志对新生儿早期感染的预测作用,研究对象包括已发生败血症或有围生期感染高危因素的患儿,结论尚不统一,更缺乏正常参考值^[4]。本研究旨在大样本收集正常足月新生儿脐带血,对其

* 基金项目:四川省科技支撑项目(2014SZ0122)。 作者简介:杨瑞兰(1962—),大专,副主任医师,主要从事新生儿感染研究。

中过敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、PCT、IL-6、IL-8、白细胞计数 (WBC) 及血小板 (PLT) 水平进行研究, 初步确立国内足月新生儿感染相关标志物正常水平参考值, 为新生儿早期细菌感染早期预测奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月到 2013 年 10 月重庆医科大学附属儿童医院产出的足月新生儿脐带血 1 476 例。排除标准: 脐带绕颈 2 周以上; 羊水浑浊; 胎膜早破大于 18 h; 产前 48 h 使用地塞米松, 产前 4 h 使用麻醉药物; 母亲产前 72 h 内发热及感染性疾病史, 妊娠期高血压, 妊娠期糖尿病及妊娠期胆汁淤积。最终纳入研究的全部新生儿都生后 72 h 无任何感染迹象。

1.2 仪器与试剂 BC-5300 全自动血液分析仪购自迈瑞生物医疗电子股份有限公司, HP-083/4 特定蛋白分析仪购自禾柏生物技术有限公司, WF-0901/1 型免疫荧光检测仪, TD24-W5 离心机, 培养箱, 罗氏试剂盒购自万孚生物技术股份有限公司, DNX-9620G 购自北京普朗新技术有限公司。

1.3 方法 新生儿出生后, 立即夹紧脐带, 胎盘娩出前分别抽取脐静脉血 3 mL, 注入两支洁净抗凝试管内, 在其中一个标本中抽取 15 μ L 做血常规检查, 其余标本常温 3 000 r/min 离心 10 min, 分别抽取 1 mL 血浆利用免疫比浊法检测脐带血中 CRP 的表达水平, 利用免疫色谱法检测脐带血中 PCT 的表达水平; 另一标本常温 3 000 r/min 离心 10 min, 提取 1 mL 血浆注入洁净试管中, 采用 ELISA 法脐带血中 IL-6、IL-8 的表达水平。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2007 及 SAS9.0 软件进行处理, 计量资料以均值、中位数及界限表示, 对于双向分布资料, 其参考区间采取 P5/P95 进行描述, 对于单向性资料, 其参考区间采用 P90 描述数据上限。所有数据不服从方差齐性及正态分布, 故多组间数据比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验, 两组间数据比较采用 Mann-Whitney 秩和检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

2.1.1 筛除情况 在初步纳入的 1 428 例患儿中, 剔除脐带绕颈两周以上 12 例、羊水浑浊 45 例, 胎膜早破大于 18 h 42 例、产前 48 h 使用地塞米松 24 例, 产前 4 h 用过麻醉药 6 例; 母亲产前 72 h 感染及发热病史 24 例, 妊娠高血压综合征 51 例, 妊娠期糖尿病 3 例, 妊娠期胆汁淤积 30 例; 最终纳入的统

计数为 1 191 份, 全为单胎。所剔除的患儿中有 12 例被诊断为早发败血症。早发败血症诊断参照标准如下: 72 h 内起病, 临床上有败血症相关表现, 并且血培养阳性^[5]。

2.1.2 脐血感染生物学标志参考区间 hs-CRP、PCT、IL-6、IL-8、PLT 及 WBC 总数均值见表 1, 所有指标均不服从正态分布, 故以中位数, 上下(上)限描述参考范围, 其具体参考区间, 见表 1。

2.2 各项感染生物学标志与孕周、出生体质量及生产方式的关系

2.2.1 各项感染生物学标志与孕周关系 各项感染生物学标志参考区间按孕周分组(表 2), 不同孕周间, 各感染生物学标志差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.2 各项感染生物学标志与出生体质量关系 各项感染生物学标志按不同出生体质量分组见表 3, 不同出生体质量新生儿各感染生物学标志比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2.3 各项感染生物学标志与生产方式关系 各项感染生物学标志按剖宫产与顺产分组见表 4, 血小板在顺产组与剖宫产组中数值有差别, 在顺产组中较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各感染指标参考区间 ($n = 1 191$)

项目	均值	是否服从正态分布	中位数	下限	上限
hs-CRP(mg/L)	1.3	否	0.5	—	3.1*
PCT(ng/mL)	0.13	否	0.10	—	0.18*
IL-6(ng/L)	72.5	否	56.6	11.9	133.2**
IL-8(ng/L)	1 126.1	否	976.0	111.7	2 507.1**
PLT($\times 10^9/L$)	240.0	否	242.0	120.0	339.0**
WBC($\times 10^9/L$)	12.2	否	12.9	7.6	19.3**

*: 单向性资料, 采用 P90 描述上限; **: 双向性资料, 采用 P5/P95 描述上下限。

2.3 各项感染生物学标志参考区间与早发败血症患儿对应指标比较 对筛除的发生早发败血症新生儿的脐血及病例资料进行了搜集, 以初步探讨上述生物学标志的应用价值。早发败血症患儿的 hs-CRP 及 PCT 较建立的标准区间高($P < 0.05$), 其余指标与标准区间相比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 5。

表 2 各感染学生物标志按孕周分组参考区间 (下限-上限)

孕周	n	hs-CRP (mg/L) *	PCT (ng/mL) *	IL-6 (ng/L) **	IL-8 (ng/L) **	PLT ($\times 10^9/L$) **	WBC ($\times 10^9/L$) **
37~37 ⁺ 6周	84	— 2.9	— 0.21	11.9 114.0	112.8 2 796.6	176 326	8.3 22.8
38~38 ⁺ 6周	255	— 2.5	— 0.17	11.3 132.3	105.7 3 382.1	121 331	7.7 19.7
39~39 ⁺ 6周	408	— 2.1	— 0.18	11.6 137.0	103.3 2 319.6	108 337	7.3 18.9
40~40 ⁺ 6周	321	— 3.5	— 0.18	12.8 129.7	130.8 2 333.9	123 354	7.7 19.9
41~41 ⁺ 6周	123	— 3.1	— 0.16	11.9 147.1	111.7 2 413.3	100 348	8.6 19.1
H		2.773	2.121	3.755	1.132	8.53	0.097
P		0.596	0.714	0.440	0.889	0.074	0.999

*: 单向性资料, 采用 P90 描述上限; **: 双向性资料, 采用 P5/P95 描述上下限。

表 3 各感染生物学标志按出生体质量分组参考区间(下限-上限)

出生体质量(kg)	n	hs-CRP		PCT		IL-6		IL-8		PLT		WBC	
		(mg/L) *	(mg/L) *	(ng/mL) *	(ng/mL) *	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **
<3	249	—	1.9	—	0.17	10.9	104.9	108.5	2 006.3	85	347	7.4	19.7
3.0~3.5	681	—	2.6	—	0.18	12.2	137.0	128.4	2 683.4	122	331	8.1	19.1
3.5~4.0	243	—	5.3	—	0.19	14.0	136.5	104.4	2 157.4	127	337	8.2	19.9
>4	18	—	15.8	—	0.18	12.7	114.0	116.4	3 267.4	156	317	8.9	22.8
H			3.186		2.171		0.112		1.464		0.243		3.855
P			0.364		0.538		0.990		0.691		0.970		0.278

*:单向性资料,采用 P90 描述上限;** :双向性资料,采用 P5/P95 描述上下限。

表 4 各感染生物学标志按生产方式分组参考区间(下限-上限)

生产方式	n	hs-CRP		PCT		IL-6		IL-8		PLT		WBC	
		(mg/L) *	(mg/L) *	(ng/mL) *	(ng/mL) *	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **
顺产	405	—	3.4	—	0.18	11.2	137.0	104.4	2 796.6	141	348	7.7	22.8
剖宫产	786	—	2.1	—	0.18	12.7	132.3	117.6	2 248.8	119	328	7.6	18.7
Z			1.271		0.812		0.429		0.028		4.301		1.349
P			0.204		0.417		0.668		0.978		<0.000		0.178

*:单向性资料,采用 P90 描述上限;** :双向性资料,采用 P5/P95 描述上下限。

表 5 各感染生物学标志参考区间与早产败血症患儿对应指标比较(下限-上限)

组别	n	hs-CRP		PCT		IL-6		IL-8		PLT		WBC	
		(mg/L) *	(mg/L) *	(ng/mL) *	(ng/mL) *	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(ng/L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **	(×10 ⁹ /L) **
健康足月儿	1 191	—	3.1	—	0.18	11.9	133.2	111.7	2 507.1	120	339	7.6	19.3
早产败血症	12	—	3.5	—	0.33	17.7	172.2	139.5	3 338.6	112	300	9.6	24.5
Z			2.020		2.384		1.403		1.336		1.705		1.313
P			0.043		0.017		0.161		0.182		0.088		0.189

*:单向性资料,采用 P90 描述上限;** :双向性资料,采用 P5/P95 描述上下限。

3 讨论

在对感染疾病的研究中,寻找和发现有价值的生物标志物是一个重要的热点。目前 hs-PCR、PCT、IL-6、IL-8、WBC 及 PLT 均是公认较为有价值的感染生物标志物。

CRP 是一种急性时相蛋白,在机体受细菌感染时,由于白细胞等炎性细胞释放内源性递质刺激肝脏细胞,使 CRP 合成在 4~6 h 迅速增加,因此在炎症进程开始后 6~12 h 可以检测到^[6]。然而研究发现,CRP 在刚出生的新生儿中几乎检测不到或者在与感染组比较时无明显差异^[7]。近年来,采用免疫比浊法检测使得 CRP 的检测能力有了大幅提高,称为 hs-CRP,本文发现健康足月新生儿脐带血 hs-CRP 上限为 3.1 mg/L,国外研究者将脐血 hs-CRP>5 mg/L 作为临界点^[8],这与本文建立的参考区间上限有一定差异,这是由于 CRP 本身除感染外,仍受其他应激反应影响,所以单独 CRP 升高对新生儿感染诊断价值值得商榷。

PCT 是无激素活性的降钙素前肽物质,由 116 个氨基酸组成,室温下体内外稳定性好。正常情况下,PCT 在甲状腺 C 细胞中生成并裂解出降钙素。研究表明^[9],PCT 在内毒素注射后 2~4 h 上升,6 h 达到高峰,维持 8~24 h,感染刺激消失后回落。本文所建立的健康足月新生儿脐血 PCT 参考上限为

0.18 ng/mL,且不受孕周影响。国外有报道,当机体发生全身严重细菌感染和败血症等情况下,血浆 PCT 异常升高,并与疾病的严重程度呈正相关,在病毒感染、肿瘤疾病及手术创伤时则保持低水平^[10],且胎龄、出生体质量等均不影响其水平^[11],这与本文结果相符。Joram 等^[8]检测了 197 例怀疑有围生期感染的患儿脐血 PCT 发现,以外周血 PCT>0.5 ng/mL 为标准,PCT 对新生儿败血症的预测诊断价值灵敏度 88%,特异度 99%,其临界值较本文测得的 95% 上界偏高,这可能与研究对象不同有关,Joram 等的研究对象为所有有围生期感染高危因素患儿,部分患儿可能有感染,但无相关临床表现,因而测得的 PCT 值稍高。

在对细胞因子的研究中,IL-6 和 IL-8 最受关注。IL-6 是诱导 B 细胞分泌免疫球蛋白和 T 细胞激活增殖的主要因子,同时也是刺激肝细胞合成、释放急性时相蛋白的主要细胞因子,在新生儿抗细菌感染免疫中起重要作用^[12]。另一种细胞因子 IL-8 是低相对分子质量的炎症细胞趋化因子,由脂多糖或其他细胞因子刺激单核细胞产生。IL-8 对中性粒细胞有趋化作用,促使其释放超氧离子和初级颗粒成分。本文所建立的 IL-6 及 IL-8 的参考区间跨度较大,作为感染预测指标,结果不理想。国外 Benitz 等^[2]研究也表明,脐血 IL-6 及 IL-8 对健康足

月儿感染的预测并不理想,这可能与二者的生物动力学效应有关。Tasci 等^[13]研究表明,当足月儿暴露于细菌环境中时,机体需要较长时间反应,IL-6/IL-8 才会升高,这影响了脐血 IL-6/IL-8 对早期感染的诊断价值。此外,围生期窒息等其他因素也会导致 IL-6/IL-8 升高,这也影响了其特异度,是临床中运用尚不广泛的原因。

PLT 减少在危重患儿中较常见,其中败血症是引起 PLT 减少明确的危险因素。败血症病情越严重,PLT 越低^[14]。本研究建立的脐血 PLT 参考区间较健康足月儿第 1 天血小板参考区间($100\sim 260$) $\times 10^9/L$ 高^[15],可能与生产时由于出血导致 PLT 短时间升高有关。本研究还发现,顺产组的新生儿脐血 PLT 较剖宫产高,这可能与两组间母亲外周 PLT 值并不一样有关。

新生儿外周血 WBC 是新生儿感染的常用检测指标^[15],本研究建立了本地区脐血 WBC 参考区间较国外 Walka 等^[16]测得脐血 WBC 中位数及 95%CI 为 14.2 (7.8~24.3) $\times 10^9/L$,但其并未筛除产前使用糖皮质激素的健康足月新生儿,这可能是其结果比本文结果偏高原因之一。

本研究还就所建立的参考区间与早发败血症的患儿进行比较,尽管相关数据显示在早发新生儿败血症的患儿中 CRP 及 PCT 升高,但是由于所纳入的早发败血症患儿例数太少,其结果值得进一步探讨。课题组将继续搜集样本,扩大随访及研究量,在下一步研究中探讨各感染学生物标志在早期感染中的预测作用;此外,本组资料源于单医疗中心,其样本代表性存在不足,下一步将收集多中心数据作进一步探讨,为进一步研究这些生物标志在新生儿早发感染的预测作用提供线索。

参考文献

- [1] Fan Y, Yu JL. Umbilical blood biomarkers for predicting early-onset neonatal sepsis[J]. *World J Pediatr*, 2012, 8(2):101-108.
- [2] Benitz WE. Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis[J]. *Clin Perinatol*, 2010, 37(2):421-438.
- [3] Cancelier AC, Petronilho F, Reinke A, et al. Inflammatory and oxidative parameters in cord blood as diagnostic of early-onset neonatal sepsis: a case-control study[J]. *Pediatric Critical Care Medicine*, 2009, 10(4):467-471.
- [4] Cicarelli LM, Perroni AG, Zugaib M, et al. Maternal and cord blood levels of serum amyloid A, C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-8 during and after delivery[J]. *Mediators Inflamm*, 2005, 15(6):96-100.
- [5] 邵肖梅,叶鸿瑁,邱小汕,等.实用新生儿学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2011:337-340.
- [6] McWilliam S, Riordan A. How to use C-reactive protein[J]. *Arch Dis Child Educ Practice Ed*, 2010, 95(2):55-58.
- [7] Tappero E, Johnson P. Laboratory evaluation of neonatal sepsis[J]. *Newborn Infant Nurs Rev*, 2010, 10(4):209-217.
- [8] Joram N, Boscher C, Denizot S, et al. Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection[J]. *Arch Dis Child Educ Practice Ed*, 2006, 91(1):F65-F66.
- [9] Leroy S, Gervais A. Procalcitonin: a key marker in children with urinary tract infection[J]. *Adv Urol*, 2011(2011):397618.
- [10] Deis JN, Creech CB, Estrada CM, et al. Procalcitonin as a marker of severe bacterial infection in children in the emergency department[J]. *Pediatr Emerg Care*, 2010, 26(1):51-60.
- [11] Bohnhorst B, Lange M, Bartels DB, et al. Procalcitonin and valuable clinical symptoms in the early detection of neonatal late-onset bacterial infection[J]. *Acta Paediatrica*, 2012, 101(1):19-25.
- [12] Celik IH, Demirel FG, Uras N, et al. What are the cut-off levels for IL-6 and CRP in neonatal sepsis[J]. *J Clin Lab Anal*, 2010, 24(6):407-412.
- [13] Tasci Y, Dilbaz B, Uzmez Onal B, et al. The value of cord blood interleukin-6 levels for predicting chorioamnionitis, funisitis and neonatal infection in term premature rupture of membranes[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2006, 128(1):34-39.
- [14] 翟晓文,吴玥.败血症和血小板减少[J].实用儿科临床杂志,2006,21(15):962-964.
- [15] 焦建成,余加林.新生儿败血症诊断研究进展[J].中华儿科杂志,2010,48(1):32-35.
- [16] Walka M, Sonntag J, Kage A, et al. Complete blood counts from umbilical cords of healthy term newborns by two automated cytometers[J]. *Acta Haematol*, 1999, 100(4):167-173.

(收稿日期:2015-03-08 修回日期:2015-05-16)

(上接第 4257 页)

- analysis of alcohol consumption and the risk of gout[J]. *Clin Rheumatol*, 2013, 32(11):1641-1648.
- [18] Rodriguez G, Soriano LC, Choi HK. Impact of diabetes against the future risk of developing gout[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(12):2090-2094.
 - [19] Jones A, McMillan MR, Jones RW, et al. Habitual alcohol

consumption is associated with lower cardiovascular stress responses - a novel explanation for the known cardiovascular benefits of alcohol[J]. *Stress*, 2013, 16(4):369-376.

(收稿日期:2015-03-12 修回日期:2015-05-24)